

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Organická chemie



Bc. Eva Bednářová

PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ CYKLODEXTRINŮ POUŽITELNÝCH
PRO MODIFIKACE PEVNÝCH POVRCHŮ

Preparation of cyclodextrin derivatives usable for
modifications of solid surfaces

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Jindřich Jindřich, CSc.

Praha 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 8. 5. 2014

Podpis

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. za vedení při vypracovávání této diplomové práce a za ochotu pomoci při řešení problémů. Také bych ráda poděkovala svým kolegům z laboratoří 135 a 131 za vytvoření příjemného pracovního prostředí.

Za měření NMR a MS spekter bych ráda poděkovala pracovníkům servisních laboratoří, zvláště pak RNDr. Simoně Hybelbauerové Ph.D. za rady s problémy při interpretaci výsledků NMR experimentů.

Velký dík patří celé mé rodině a přátelům za všeobecnou podporu v mém studiu i mimo něj.

Obsah

Seznam zkratk a symbolů	5
1. Úvod	8
2. Cíle diplomové práce.....	9
3. Teoretická část.....	11
3.1. Cyklodextriny	11
3.1.1. Historie	11
3.1.2. Struktura a vlastnosti	12
3.1.3. Inkluzní komplexy a využití.....	14
3.2. Deriváty cyklodextrinů	17
3.2.1. Selektivní modifikace hydroxylových skupin	17
3.2.2. Nejběžnější metody selektivní modifikace primárního okraje	18
3.2.3. Metody přípravy 6 ^I -deoxy derivátů cyklodextrinů se substituenty zkončenými sulfanylovou nebo amino skupinou a vázané na cyklodextrin přes síru nebo dusík	19
3.3. Pevné povrchy a cyklodextriny	26
3.3.1. Dopaminový polymer	26
3.3.2. Zlato.....	29
4. Výsledky a diskuse	33
4.1. 6 ^I - <i>O</i> - <i>p</i> -Toluensulfonyl-β-CD (6-tosyl-β-CD, 1).....	33
4.2. 6 ^I -Deoxy-6 ^I -sulfanyl-β-CD (3)	34
4.3. β-CD-S-X-SH	35
4.4. 6 ^I -Amino-6 ^I -deoxy -β-CD	39
4.5. β-CD-N-X-NH ₂	39
4.6. β-CD-S-X-NH ₂ a β-CD-N-X-SH	42
5. Závěr.....	54
6. Experimentální část	56
6.1. Použité přístroje a chemikálie.....	56
6.2. Pracovní postupy	58
Seznam literatury.....	81
Abstrakt	87
Abstract.....	88

Seznam zkratk a symbolů

Ac	acetyl
ACC	„ <i>Asian Cyclodextrin Conference</i> “ (Asijská Cyklodextrinová Konference)
ACN	acetonitril
APT	„ <i>attached proton test</i> “
atd.	a tak dále
Boc	„ <i>t-butoxycarbonyl</i> “ (<i>t</i> -butyloxykarbonyl)
Bu	butyl
CD	cyklodextrin
COSY	„ <i>correlation spectroscopy</i> “
d	dublet
DCM	dichlormethan
dd	dublet dubletu
DEG	diethylenglykol
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	„ <i>deoxyribonucleic acid</i> “ (kyselina deoxyribonukleová)
dt	dublet tripletu
EDT	ethandithiol
ekv.	ekvivalent
ESI	„ <i>electrospray ionization</i> “ (elektrosprejová ionizace)
Et	ethyl
EUROCD	„ <i>European Conference on Cyclodextrin</i> “ (Evropská Cyklodextrinová Konference)
FTIR	„ <i>Fourier transform infrared spectroscopy</i> “ (infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací)
GTasa	glukosyltransferasa
HMBC	„ <i>heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy</i> “
hod	hodina
HSQC	„ <i>heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy</i> “
ICS	„ <i>International Cyclodextrin Symposium</i> “ (Mezinárodní Cyklodextrinové Symposium)

IUPAC	„ <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> “ (Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii)
<i>J</i>	interakční konstanta v jednotkách Hz
<i>K_a</i>	komplexační konstanta stability
konc.	koncentrovaný
l. t.	laboratorní teplota
lit.	literatura
m	multiplet
Me	methyl
min	minuta
min.	minimálně
MS	„ <i>mass spectrometry</i> “ (hmotnostní spektrometrie)
např.	například
NOESY	„ <i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i> “
NMR	nukleární magnetická rezonance
obr.	obrázek
p.a.	„ <i>per analysis</i> “ (pro analýzy)
PAH	„ <i>polyaromatic hydrocarbons</i> “ (polyaromatické uhlovodíky)
PET	polyethylentereftalát
Ph	„ <i>phenyl</i> “, (fenyl)
pH	„ <i>potential of hydrogen</i> “ (potenciál vodíku)
Phth	„ <i>phthalate</i> “ (ftalát)
Pr	propyl
red.	redukce
resp.	respektive
<i>R_f</i>	retenční faktor
RPM	„ <i>rounds per minute</i> “ (otáčky za minutu)
rozp.	rozpouštědlo
RVO	rotační vakuová odparka
s	singlet
siRNA	„ <i>small interfering ribonucleic acid</i> “
t	triplet
td	triplet dubletu
TBAI	„ <i>tetrabutylammonium iodide</i> “ (tetrabutylamonium jodid)

TeEG	tetraethylenglykol
TEG	triethylenglykol
TFA	„ <i>trifluoroacetic acid</i> “ (kyselina trifluoroctová)
THF	tetrahydrofuran
tj.	to je
TLC	„ <i>thin layer chromatography</i> “ (tenkovrstevná chromatografie)
Trt	trityl, trifenylmethyl
Ts	tosyl, <i>p</i> -toluensulfonyl
USD	„ <i>United States Dollar</i> “ (dolar Spojených států amerických)
UV	„ <i>ultraviolet</i> “ (ultrafialová)
UZ	ultrazvuk
Vis	„ <i>visible area</i> “ (viditelná oblast)
w/w	„ <i>weight/weight</i> “ (hmotnost/hmotnost)
δ	chemický posun v jednotkách ppm
λ	vlnová délka v jednotkách nm
ν	Larmorova frekvence v jednotkách MHz

1. Úvod

Cyklodextriny (CD)¹, polopřirodní produkty vznikající ze škrobu jednoduchou enzymatickou konverzí, jsou cyklické oligosacharidy složené z α -D-glukopyranosových jednotek vzájemně spojených 1 \rightarrow 4 glykosidickou vazbou². V prostoru zaujímají tvar komolého kužele s hydrofobní dutinou schopnou vytvářet inkluzní komplexy hostitel-host s řadou sloučenin³. Díky této jejich jedinečné vlastnosti, dostupnosti, nízké ceně, zanedbatelné toxicitě a snadné biodegradabilitě našly uplatnění v mnohých odvětvích průmyslu, a to ve farmaceutickém, potravinářském, kosmetickém, textilním i chemickém⁴.

Pro rozšíření možností uplatnění CD je vhodná jejich chemická derivatizace^{5,6}, která může významně ovlivnit jejich vlastnosti. Přípravou derivátů schopných vazby na vybrané pevné povrchy⁷ lze rozšířit uplatnění cyklodextrinů zejména v oblastech analytické chemie jako chirálních selektorů a molekulárních senzorů⁸ a farmacie jako nosičů léčiv⁹.

2. Cíle diplomové práce

Cílem této diplomové práce je příprava série derivátů cyklodextrinů se substituenty zakončenými nukleofilní amino nebo sulfanylovou skupinou a zároveň vázanými na cyklodextrinový skelet přes síru nebo dusík. Tyto lineární substituenty se kromě zmíněných rozdílů liší délkou a charakterem řetězce. Výsledné deriváty by měly být schopny vazby na pevné povrchy, zvláště pak na dopaminový polymer a zlatý povrch, bez ztráty inkluzních vlastností, a tak by mohly rozšířit využití cyklodextrinů ve farmaceutickém průmyslu a analytické chemii.

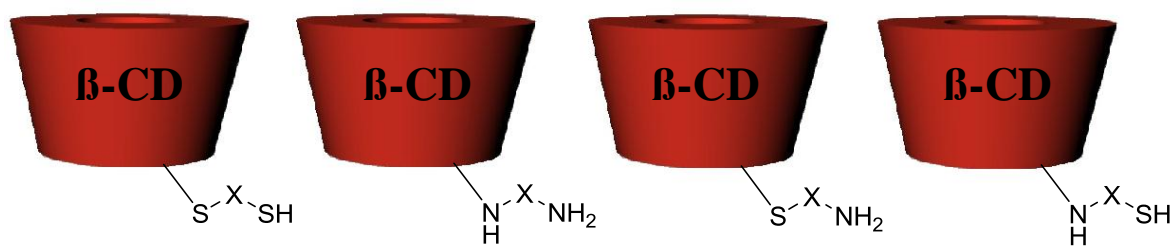
Snadnost imobilizace derivátů na površích a schopnost tvorby komplexů s řadou sloučenin bude studována na spolupracujícím pracovišti Katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Pro tuto pilotní studii přípravy byl, pro svou nízkou cenu a možnost širokého uplatnění vyplývajícího ze schopnosti tvorby inkluzních komplexů s řadou významných látek, zvolen jako vhodný substrát β -CD. Z důvodu nejlepší dostupnosti kavity cyklodextrinu pro tvorbu supramolekulárních komplexů při vazbě na pevné povrchy je vhodná derivatizace v poloze 6.

Cíle této diplomové práce lze tedy shrnout do následujících bodů:

- Příprava série derivátů β -CD se substituenty zakončenými sulfanylovou skupinou a vázanými na cyklodextrinový skelet přes síru.
- Syntéza série derivátů β -CD se substituenty vázanými na cyklodextrinový skelet pomocí dusíku a zakončenými amino skupinou.
- Derivatizace β -CD substituenty vázanými na cyklodextrinový skelet prostřednictvím síry a zakončenými NH_2 skupinou.
- Příprava derivátů β -CD substituovaných řetězci zakončenými SH skupinou a vázanými na skelet CD přes dusík.
- Příprava výchozích látek vhodných pro dané reakce při jejich nedostupnosti nebo vysoké ceně v porovnání se snadností syntézy.

Struktury cílových cyklodextrinových derivátů jsou znázorněny na obrázku 1.



Obr. 1: Cílové cyklodextrinové deriváty

3. Teoretická část

3.1. Cyklodextriny

Cyklodextriny jsou v oblasti supramolekulární chemie velmi významnými látkami¹. Důvodem je jejich schopnost tvorby komplexů hostitel-host, tedy komplexů, v nichž jsou interagující části vázány nekovalentními vazbami. K rozsáhlému používání cyklodextrinů připívá několik skutečností:

- 1) Výchozí látkou při produkci cyklodextrinů je obnovitelný přírodní materiál (škrob) a výroba probíhá ekologickými metodami.
- 2) Produkce CD se pohybuje v řádech tisíců tun ročně a jejich cena je dostupná pro průmyslové využití.
- 3) Vlastnosti CD mohou být uzpůsobeny pro požadované účely chemickou modifikací.
- 4) CD nejsou toxické, a tak mohou být používány ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu.

3.1.1. Historie

Přestože byly cyklodextriny v čisté formě poprvé izolovány a studovány až v roce 1936¹⁰ (α - a β -CD) resp. v roce 1948¹¹ (γ -CD), prvotní zmínka o nich pochází již z roku 1891, kdy Villiers¹² izoloval 3 gramy krystalické látky, která byla odpadním produktem kultivace *Bacillus amylobacter* se škrobovou výživou. Tuto látku nazval „celulosine“ pro její podobnost s chemickými vlastnostmi celulosy. První podrobné studie byly ovšem provedeny až o 12 let později Schardingerem¹³, který izoloval bakteriální kulturu schopnou přeměny škrobu na cyklodextrin a nazval ji *Bacillus macerans*. Dokázal identifikovat vznik dvou cyklodextrinových produktů (později označených jako α - a β -CD), které se lišily svým chováním při přidavku jódu.

Na tyto práce navázal ve 30. letech 20. století Pringsheim¹⁴, který publikoval několik článků, kde popisoval silnou tendenci „Schardingerových dextrinů“ tvořit komplexy s řadou organických sloučenin. V druhé polovině 30. let byla díky izolaci čistých frakcí α - a β -CD zjištěna jejich struktura¹⁵ a v následujících letech se výzkum zaměřil na optimalizaci výrobních postupů, stanovování základních fyzikálních a chemických vlastností a na práce v oblasti komplexace. Velký nárůst publikací a patentů nastal v 70. letech minulého století díky vyvrácení několika tvrzení z předcházejících let o toxicitě cyklodextrinů¹⁶. Zájem o CD byl navíc podporován jejich stále klesající cenou,

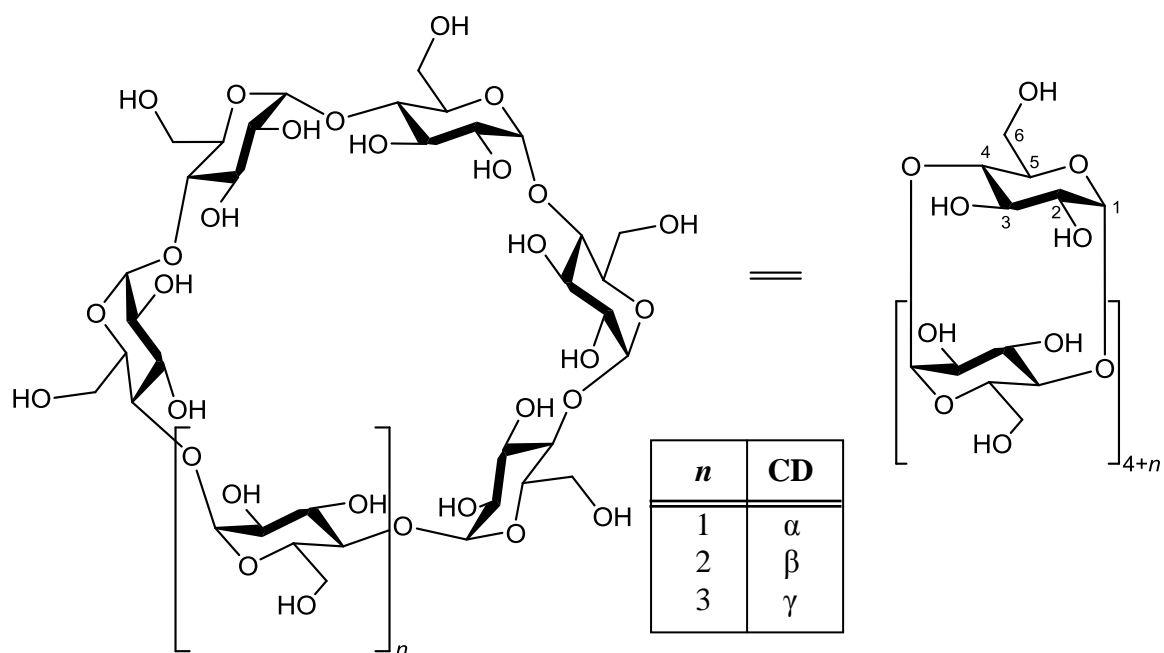
kteřá se na začátku 70. let pohybovala okolo 2000 USD/kg, zatímco v devadesátých letech pouze v řádech jednotek dolarů¹. S tím souviselo i rozšíření prodeje nejpoužívanějších cyklodextrinových derivátů.

V roce 1981 se konalo první mezinárodní symposium, kde byly shrnuty veškeré dosavadní objevy v cyklodextrinové chemii. Důkazem neutuchajícího zájmu o výzkum v oblasti CD je časté pořádání Evropských (v pořadí třetí „EUROCD“ se konala v roce 2013 v turecké Antalyi), Asijských (také v roce 2013 sedmá „ACC“ v thajském Bangkoku) a Mezinárodních (sedmnáctá „ICS“ se bude konat letos v německém Saarbrückenu) cyklodextrinových konferencí a také stále širší uplatnění těchto supramolekul v mnohých odvětvích průmyslu.

3.1.2. Struktura a vlastnosti

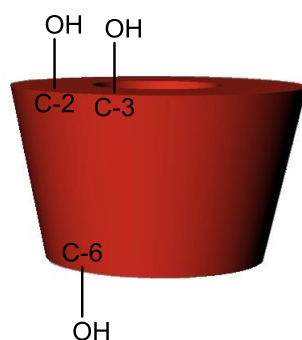
Pokud je amylotická frakce škrobu degradována některým z enzymů patřících do skupiny glukosyltransferas (GTas), šroubovice amylosy je hydrolyzována a vzniklé konce řetězce jsou spojeny za vzniku kruhů¹. Tvoří se tak bílé krystalické látky, cyklodextriny, cyklické oligosacharidy skládající se z α -D-glukopyranosových jednotek v 4C_1 židličkové konformaci vzájemně spojených 1 \rightarrow 4 glykosidickou vazbou.

GTasy jsou bakteriálního původu a nejsou příliš specifické, vzniká tak směs různých cyklodextrinů¹⁷, z nichž největší část tvoří cykly složené z 6, 7 a 8 glukopyranosových jednotek, které jsou označovány postupně jako α -, β - a γ -CD. Menší část směsi je tvořena cyklodextriny s 5 (označovaný pre- α -CD), 9 (δ -CD) a 10 (ϵ -CD) glukopyranosami v cyklu. Izolovány byly také CD s více než jedním stem jednotek. S rostoucím počtem glukos ztrácejí CD kruhový tvar a více se podobají levotočivé šroubovici amylosy, svými vlastnostmi se proto od tří nejběžnějších velmi liší a zatím nenašly své uplatnění. Pojmem „cyklodextriny“ tak budou v dalším textu myšleny pouze α -, β - a γ -CD. Na obrázku 2 je znázorněna jejich struktura a naznačeno číslování uhlíkových atomů v glukosové jednotce.



Obr. 2: Struktura molekul cyklodextrinů.

V prostoru mají CD tvar dutého komolého kužele se všemi glukopyranosami v kruhu v cis uspořádání. Primární hydroxylové skupiny (OH v poloze 6) tak tvoří užší okraj komolého kužele, zatímco všechny sekundární hydroxylové skupiny (OH v polohách 2 a 3) se nacházejí na jeho širším okraji (viz obr. 3). Kavita CD je tvořena C-H vazbami uhlíků v polohách 3, 5 a 6 a etherickými kyslíky, jejichž volné elektronové páry směřují dovnitř kavity a vytváří tak elektronově husté prostředí, což způsobuje, že dutina cyklodextrinu má některé vlastnosti typické pro Lewisovy báze. Distribuce hydrofilních skupin na okrajích způsobuje jejich dobrou rozpustnost v polárních rozpouštědlech, zatímco kavita je hydrofobní a vytváří tak „mikroheterogenní prostředí“.



Obr. 3: Tvar cyklodextrinu v prostoru.

Glukopyranosová jednotka je v případě nativních CD velmi rigidní částí², konformační volnost lze najít pouze u rotace CH₂OH skupiny připojené na uhlík v poloze 5 a u omezeného rotačního pohybu jednotlivých glukos, tedy otáčení kolem glykosidických

vazeb. To je dáno zvláště díky zpevnění makrocyklu prostřednictvím vodíkových vazeb, které se mohou vytvářet mezi hydroxylovými skupinami uhlíků v polohách 2 a 3 vedlejších glukosových jednotek. Tento pás vodíkových vazeb je kompletní pouze u β -CD a dle některých teorií právě tato skutečnost způsobuje jeho mnohem nižší rozpustnost ve vodě ve srovnání s ostatními CD. Svůj tvar a uspořádání si CD udržují jak v roztoku, tak i v krystalické formě.

Nejdůležitější vlastnosti a strukturní charakteristiky CD jsou shrnuty v tabulce 1.

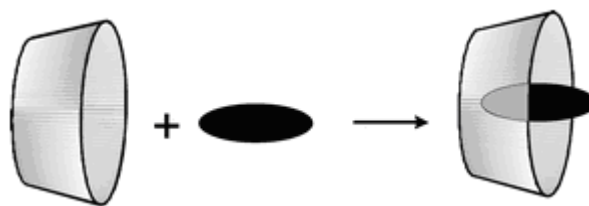
Tabulka 1: Rozměry a vlastnosti α -, β - a γ -CD^{1,6}.

CD	α -	β -	γ -
Počet glukosových jednotek	6	7	8
Molární hmotnost / g mol⁻¹	972,85	1134,99	1297,14
Rozpustnost ve vodě při 25 °C / g dm⁻³	145	18,5	232
Průměr kavity / Å	4,7–5,3	6,0–6,5	7,5–8,3
Hloubka kavity / Å	7,9 – 8,0	7,9 – 8,0	7,9 – 8,0
Vnitřní objem kavity / Å³	174	262	472
Objem kavit v 1 mol CD / ml	104	157	256
Objem kavit v 1 g CD / ml	0,10	0,14	0,20
Optická rotace / °	+150,5	+162,5	+177,4
Krystalová voda / % (w/w)	10,2	13,2–14,5	8,1–17,7

Cyklodextriny jsou stabilní v alkalickém i v kyselém prostředí za běžných experimentálních podmínek. Kyselé hydrolyze podléhají při teplotách vyšších než 60 °C a hodnotách pH nižších než 3,5. Účinkem ultrafialového záření i záření ve viditelné oblasti nedochází k degradaci CD, štěpení glykosidických vazeb bylo ale pozorováno při vystavení CD γ -paprsům¹⁷.

3.1.3. Inkluzní komplexy a využití

Schopnost vytvářet inkluzní komplexy³ (viz obr. 4) s řadou látek organické i anorganické povahy je nejvýznamnější a také nejvyužívanější vlastností cyklodextrinů. Tvorba těchto komplexů probíhá nejsnadněji v roztocích, nejlépe ve vodných. Důvodem tohoto jevu je vysoká energie systému, kde se polární molekuly vody nacházejí v hydrofobní kavitě, zatímco lipofilní host je obklopen molekulami vody. Energie tohoto systému je výrazně snížena při inkluzi hosta do dutiny a právě náhrada vysokoenergetických molekul vody je hnací silou daného procesu.



Obr. 4: Vznik inkluzního komplexu.

Komplexace hosta není příliš selektivní, jedinými podmínkami pro vznik jsou vhodná geometrie hosta a jeho nižší polarita než přítomného rozpouštědla. Nejvýhodnější pro inkluzi je taková molekula, jejíž hydrofobní část zaplní dutinu, zatímco její hydrofilní skupiny interagují s hydroxylovými skupinami cyklodextrinu nebo jsou přístupné polárnímu rozpouštědлу. Host je v kavitě vázán vodíkovými vazbami, významnou roli pro stabilizaci komplexu hrají hydrofobní a sterické efekty.

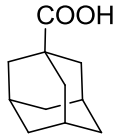
Vzniklé inkluzní komplexy mohou být izolovány jako stabilní krystalické látky. Při jejich rozpouštění se ale vytváří rovnováha mezi asociovaným a disociovaným species a toto ekvilibrium lze charakterizovat pomocí konstanty stability K_a (lit. 1). Ve vzniklém komplexu jsou hostitel a host nejčastěji v poměru 1:1. Tento druh inkluze je nejběžnější a nejprozkoumanější, často ale dochází ke vzniku komplexů s komplikovanějším poměrem asociovaných species 1:2, 2:1, 2:2 a dalšími¹⁸. Tyto složitější supramolekulární struktury lze nalézt např. v rotaxanech a polyrotaxanech²⁴. Vzorec pro výpočet konstanty stability pro inkluzi jednoho hosta H do jedné molekuly cyklodextrinu je uveden ve schématu 1.



Schéma 1: Konstanta stability inkluzního komplexu.

Cyklodextriny jsou schopné do své kavity přijmout řadu sloučenin³, např. uhlovodíky, alkoholy, aminy, karboxylové kyseliny, aminokyseliny, sacharidy, azosloučeniny atd. Tabulka 2 uvádí příklady konstant stability některých těchto látek. Tato konstanta je závislá nejenom na typu CD a hostující molekule, ale i na teplotě, přítomném rozpouštědle a i na použité technice měření. Mezi nejběžnější metody stanovení K_a patří mikrokolorimetrie, NMR spektroskopie, potenciometrie, UV-Vis spektroskopie, chromatografické metody atd., z nichž právě mikrokolorimetrie poskytuje nejsprávnější hodnoty.

Tabulka 2: Příklady konstant stability ($\log K_a$) inkluzních komplexů CD s některými jednoduchými látkami.³

CD	α -	β -	γ -
benzen	1,50	2,03	0,96
cyklohexanol	1,86	2,89	-
resorcinol	1,21	2,00	1,33
kyselina benzoová	2,96	2,10	2,10
	2,15	4,60	-
D-glukosa	1,56	2,62	-
L-fenylalanin	1,13	1,26	-

Uvedené konstanty byly měřeny mikrokolorimetrií ve vodných roztocích. „-“, značí, že K_a nebyla měřena.

Inkluzí do kavity CD se mohou měnit některé vlastnosti jak hosta, tak i hostitele¹. Jde například o změny spektrálních vlastností (NMR, UV-Vis spektroskopie, FTIR...), snížení těkavosti hosta nebo zvýšení jeho hydrofility a tedy dosažení lepší rozpustnosti v polárních rozpouštědlech. Reaktivita hosta je ve většině případů snížena, někdy ale mohou cyclodextriny fungovat jako umělé enzymy schopné katalyzovat běžné chemické reakce. Těchto změn vlastností se využívá v průmyslových aplikacích cyclodextrinů⁴, a to zejména v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, kde se CD používají jako stabilizátory, maskovací činidla pro odstranění nepříjemných pachů a chutí a jako aditiva pro pozvolné uvolňování léčiv nebo zvýšení rozpustnosti hostů ve vodných roztocích. V kosmetickém a textilním průmyslu našly CD uplatnění jako sloučeniny způsobující pomalé uvolňování vůní, v oblasti chemie⁸ zase jako chirální selektory přítomné v mobilní fázi nebo ukotvené na fázi stacionární v chromatografických metodách, jako umělé enzymy, chemosenzory nebo chirální posunová činidla pro NMR experimenty¹⁹.

3.2. Deriváty cyklodextrinů

Nederivatizované CD sice našly své uplatnění jako supramolekulární hostitelé, jejich použití je ale omezené¹. Jednou z nejvíce limitujících vlastností, která odstartovala snahu o derivatizaci CD, je nízká rozpustnost β -CD ve vodných roztocích. Právě β -CD je totiž svou velikostí kavity nejvhodnější pro inkluzi celé řady farmaceutik.

Většina metod přípravy derivátů je příliš komplikovaná a ekonomicky náročná, a tak průmyslově nevyužitelná. Ideální modifikace by měla probíhat s co nejlepšími výtěžky za co nejjednodušších, ekonomicky přijatelných a ekologických podmínek. Výsledný produkt by měl být netoxický, zachovávat (nebo lépe vylepšovat) inkluzní schopnosti CD a měl by mít i výhodné vlastnosti pro specifické aplikace.

Derivatizace způsobuje změny velikosti, tvaru a dalších fyzikálních vlastností kavity, ale i povrchu CD⁶. Význam má také samotné zavedení nových funkčních skupin do molekuly. Do struktury CD může být např. zavedena fotochemicky aktivní nebo pH senzitivní skupina pro uplatnění CD jako chemoselektorů²⁰, koordinační místo schopné vázat kovy pro vytvoření metalocyklodextrinů²¹ nebo skupiny s katalyticky aktivními místy pro vytvoření umělého enzymu²². Dalším důvodem derivatizace může být snaha o syntézu molekuly schopné se vázat na pevný povrch⁷ nebo vytvářet micely²³. Takové makrostruktury mohou najít uplatnění např. jako chirální selektory nebo nosiče biologicky aktivních látek.

Vzhledem k velkému počtu OH skupin (18 v α -CD, 21 v β -CD a 24 v γ -CD), které lze modifikovat velkým počtem různých substituentů, je množství připravitelných derivátů téměř nekonečné⁵. Pro zisk chemicky čistého individua je ovšem přítomnost takového množství modifikovatelných hydroxylů problémem. Komplikací je i přítomnost hydrofobní kavity, která může derivatizační činidlo komplexovat, a vést tak reakci nepředvídatelným směrem. Selektivní modifikace je tak velmi náročná a pro některé účely zbytečná, zvláště pokud není nutné pracovat s homogenním materiálem (např. pro některé chromatografické a farmaceutické účely). V takovýchto případech svému účelu poslouží náhodně substituované deriváty. Pro specifické uplatnění i výzkumné účely je ovšem nutné pracovat s chemickými individui.

3.2.1. Selektivní modifikace hydroxylových skupin

Existuje několik způsobů, jak selektivně modifikovat jednu, dvě nebo více vybraných hydroxylových skupin^{5,6}. Takové metody musí být schopny kontroly

regioselektivity i rozsahu reakce a uplatňují se zde poznatky o různé chemické reaktivitě jednotlivých hydroxylových skupin a schopnost reagentu inkudovat se do kavity CD.

Hydroxylová skupina připojená na uhlík v poloze 6 je nejvíce bazická a i nejvíce nukleofilní, současně je také nejlépe přístupná. Naopak hydroxyl v poloze 2 je nejvíce kyselé. Za normálních podmínek, které nezvýhodňují ani jednu z modifikovatelných hydroxylových skupin, tedy elektrofil atakuje polohu 6. S rostoucí reaktivitou činidla probíhá substituce méně selektivně. CD derivát substituovaný v poloze 2 lze připravit elektrofilním atakem po přednostní deprotonaci tohoto nejkyselejšího hydroxylu. Komplikací zmíněného procesu je možná migrace protonu mezi polohami 2 a 6. 3¹-*O* deriváty lze díky nejtěžší přístupnosti dané hydroxylové skupiny získat nejobtížněji a jsou často připraveny pouze jako jeden z produktů neselektivní modifikace. Výjimkami jsou reakce, při nichž je reagent inkudován do kavity hostitele a svým reakčním centrem interaguje právě s hydroxylem v poloze 3. Příkladem takové syntézy je i příprava 3¹-*O*-cinnamyl-β-CD²⁵ při reakci cinnamylbromidu s β-CD, která byla vyvinuta naší skupinou. Vliv na regioselektivitu reakce může mít také použité rozpouštědlo. Objemnost činidla (pokud nedochází ke komplexaci) nemá ve většině případů vliv ani na regioselektivitu, ani na rozsah reakce.

Jinou strategií získání požadovaného produktu je selektivní ochránění všech více reaktivních center a poté provedení požadované modifikace následované odchraňujícími kroky^{5,6}. Z důvodu nízkého výtěžku celkové konverze přítomností série ochraňujících a odchraňujících kroků a časové i materiálové náročnosti této přípravy je tato metoda, i přes často vysokou výtěžnost ústředního kroku reakční sekvence, obvykle méně výhodná.

3.2.2. Nejběžnější metody selektivní modifikace primárního okraje

Hydroxylová skupina připojená na uhlík v poloze 6 je atakována elektrofilem v bazických rozpouštědlech nebo ve vodných roztocích s přísadkou slabé báze⁵. Kýžený produkt lze získat buď přímou reakcí s elektrofilními činidly, kterými mohou být např. alkyl-, silyl-, fosforyl- a sulfonylhalogenidy nebo halogenidy karboxylových kyselin. Sulfonáty a halogenidy CD mohou také sloužit jako intermediáty pro následné přeměny. Právě *p*-toluensulfonová skupina je díky snadnému odstupování při nukleofilním ataku, ale také díky snadné izolaci 6¹-*O*-*p*-toluensulfonyl-CD (6-tosyl-CD) od výchozí látky i více substituovaných produktů, jednou z nejobvyklejších⁶. Největším omezením použití 6-tosyl-CD je jejich nestálost v silně bazických podmínkách. V takovém případě totiž dochází k deprotonaci hydroxylové skupiny v poloze 3 derivatizované glukopyranosové jednotky a

následný intramolekulární atak poskytuje 3,6-anhydrocyklodextrin. Popsaná reakce je znázorněna ve schématu 2.

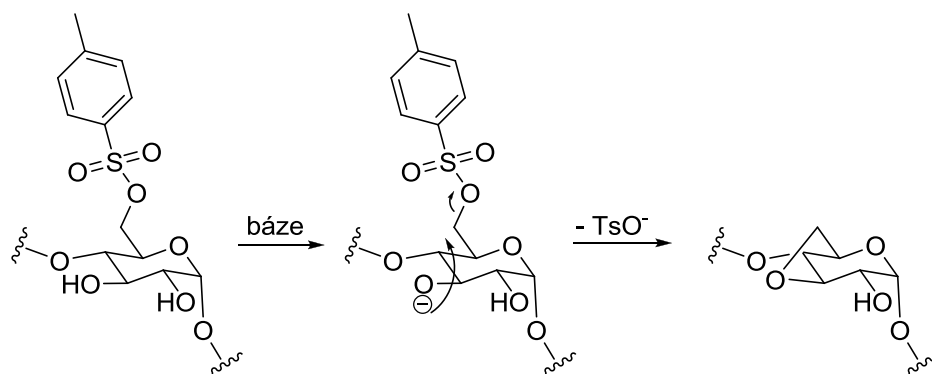
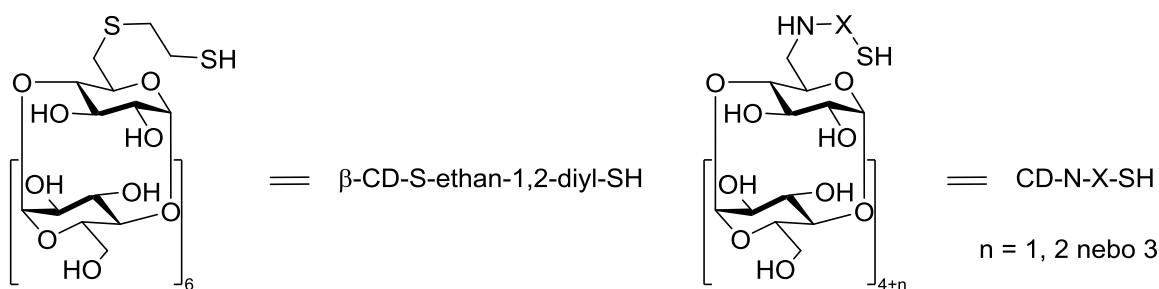


Schéma 2: Vznik 3,6-anhydrocyklodextrinu.

6-Tosyl-CD se nejčastěji připravují reakcí tosylchloridu s příslušným CD v pyridinu²⁶, vodném roztoku hydroxidu²⁷ nebo *N,N*-dimethylformamidu⁵. Separace od výchozího CD a více substituovaných CD je v případě β -CD prováděna rekrystalizací z vody nebo z 50% roztoku methanolu ve vodě, v případě α - a γ -CD sloupcovou chromatografií na silikagelu s reverzní fází. 6-Tosyl-CD jsou nejobvyklejšími intermediáty pro přípravu CD derivátů, v nichž je substituent vázán prostřednictvím síry nebo dusíku.

3.2.3. Metody přípravy 6^I-deoxy derivátů cyklodextrinů se substituenty zakončenými sulfanylovou nebo amino skupinou a vázané na cyklodextrin přes síru nebo dusík

Pro snadnou orientaci bude v následujícím textu zkracován popis monosubstituovaných derivátů v poloze 6 se substituenty zakončenými sulfanylovou nebo amino skupinou a vázanými na cyklodextrinový skelet přes síru nebo dusík následujícím způsobem: první část zkráceného názvu označuje daný typ cyklodextrinu (α -CD, β -CD, γ -CD), následuje označení atomu, přes který je substituent vázán na CD skelet (N – dusík, S – síra), poté název řetězce dle platné nomenklatury IUPAC a na závěr koncová skupina substituentu (NH₂ – amino, SH – sulfanyl). Jednotlivé části názvu budou odděleny pomlčkou. Pro označení skupiny látek se společným spojovacím atomem a koncovou skupinou bude část popisující substituent nahrazena písmenem „X“, pokud půjde o celou skupinu bez rozdílu typu cyklodextrinu, bude část označující jeho druh nahrazena „CD“. Příklad použitého zkracování je znázorněn na obrázku 5.



Obr. 5: Příklady zkracování názvů derivátů cyclodextrinů.

CD-S-X-SH

Wenz et al.²⁸ publikoval v roce 1996 syntézu hned dvou CD derivátů patřících do této skupiny látek, β -CD-S-3,6-dioxaoktan-1,8-diyl-SH a β -CD-S-dekan-1,10-diyl-SH. Syntéza obou látek probíhala reakcí 6-tosyl- β -CD s příslušným dithiolem v 20% roztoku ethanolu ve vodě s přidavkem uhličitanu sodného. Produkty byly izolovány v 20% resp. 17% výtěžku. Účelem syntézy byla studie schopnosti vazby na povrch zlata.

O 10 let později Wang et al.²⁹ popsal syntézu β -CD-S-hexan-1,6-diyl-SH za stejných podmínek jako v předcházejícím případě. Izolace probíhala pouhým odfiltrováním nerozpustného materiálu a filtrát byl bez další purifikace použit k vytvoření supramolekulárních struktur na fázovém rozhraní mezi vodou a toluenem. CD derivát tak nebyl charakterizován žádnou metodou.

Žádné přípravy α -CD-S-X-SH ani γ -CD-S-X-SH nebyly dosud publikovány.

CD-N-X-NH₂

Do této doby bylo publikováno velké množství CD-N-X-NH₂ derivátů. Nejkratší a také z hlediska celkového výtěžku reakce nejlepší metodou přípravy je reakce 6-tosyl-CD a dalších sulfonátů CD s příslušnými diaminy. V dalším textu bude tedy věnována pozornost pouze těmto postupům.

Nejčastěji syntetizovanou látkou tohoto typu je β -CD-N-ethan-1,2-diyl-NH₂, jejíž příprava byla popsána ve více než 100 publikacích a patentech. Jako první byla syntéza této látky popsána³⁰ již v roce 1984, v nejvyšším publikovaném výtěžku 98 % ji ale připravil až v roce 2011 Mao et al.³¹, a to reakcí 6-tosyl- β -CD s ethan-1,2-diaminem v DMF. Důvodem pro přípravu této látky byla snaha o vytvoření ligandu vhodného pro katalýzu hydrolýzy esterů.

O jednu methylenovou jednotku delší spojka byla na CD připojena³² poprvé v roce 1994. O rok později byl β -CD-N-propan-1,3-diyl-NH₂ připraven v dosud nejvyšším výtěžku 98 % Bellem et al.³³. V tomto případě byl propan-1,3-diamin použit jako rozpouštědlo při reakci s 6-tosyl- β -CD. Tato sloučenina byla po další derivatizaci použita

jako chelatační činidlo atomu chromu pro studium střevní permeability.

β -CD-N-butan-1,4-diyl-NH₂ byl v nejvyšším výtěžku 88 % připraven³⁴ reakcí tosyl derivátu β -CD s butan-1,4-diaminem v DMF. Produkt byl použit pro studium inkluze avidinu do kavity CD. S hexan-1,6-diaminovou spojkou nechal 6-tosyl- β -CD zreagovat i Bittman et al.³⁵. β -CD-N-hexan-1,6-diyl-NH₂ byl v rámci této práce využit pro odstranění kyseliny palmitové z vodných roztoků. O další dvě methylenové jednotky prodloužil spojení mezi atomy dusíku Lincoln et al.³⁶, a připravil tak β -CD-N-oktan-1,8-diyl-NH₂. Příprava probíhala znovu reakcí 6-tosyl- β -CD s oktan-1,8-diaminem tentokrát ale v 1-methylpyrrolidin-2-onu ve výtěžku 56 %. V tomto případě byly dusíkové atomy využity pro chelataci kovů.

β -CD-N-3,6-dioxaoktan-1,8-diyl-NH₂, tedy derivát s připojeným diaminem odvozeným od triethylenglykolu, byl připraven hned několikrát. Například Jiang et al.³⁷ tuto látku připravil reakcí 6-tosyl- β -CD s 3,6-dioxaoktan-1,8-diaminem v 1-methylpyrrolidin-2-onu s přidavkem jodidu sodného ve výtěžku 83 %. Tato látka byla použita pro tvorbu superstruktury vhodné pro transport léčiva k cílové tkáni v organismu.

Reakcí 6-tosyl- β -CD s 3-azapentan-1,5-diaminem byl bez dalších aditiv připraven β -CD-N-3-azapentan-1,5-diyl-NH₂ Cucinottem et al.³⁸ ve výtěžku 25 %. Důvodem této syntézy byla snaha připravit ligand schopný komplexovat atomy mědi. Strukturně podobným derivátem je β -CD-N-3,6-diazaoktan-1,8-diyl-NH₂, ten byl v nejvyšším výtěžku 90 % připraven reakcí příslušného diaminu s 6-tosyl- β -CD, rozpouštědlem v této reakci byl 1-methylpyrrolidin-2-on a aditivem jodid sodný. Zink et al.³⁹ tuto látku použil pro konstrukci fotosenzitivních nanočástic.

Již méně bylo připraveno CD-N-X-NH₂ derivátů od α - a γ -CD. α -CD-N-hexan-1,6-diyl-NH₂ (lit. 40) a α -CD-N-(E)-stilben-4,4'-diyl-NH₂ (lit. 41) byly připraveny reakcí 6-tosyl- α -CD a příslušného diaminu v 1-methylpyrrolidin-2-onu. První ze sloučenin byla připravena pro studium inkluzních komplexů, druhá pro tvorbu rotaxanových makrostruktur.

V roce 2010 publikoval Inoue et al.⁴² přípravu série γ -CD-N-X-NH₂ a to konkrétně γ -CD-N-ethan-1,2-diyl-NH₂, γ -CD-N-propan-1,3-diyl-NH₂, γ -CD-N-butan-1,4-diyl-NH₂ a γ -CD-N-hexan-1,6-diyl-NH₂. Produkty byly získány reakcí 6-tosyl- γ -CD s příslušným diaminem, který měl v reakci i úlohu rozpouštědla. Na všech těchto látkách byla studována schopnost katalýzy fotocykloclomerizace antracen-2-karboxylátu. I přes pečlivý popis katalýzy nebyly uvedeny výtěžky přípravy. V jiném článku stejných autorů je popsána⁴³ syntéza γ -CD-N-hexan-1,6-diyl-NH₂ za stejných podmínek pro stejný účel. Tentokrát je

výtěžek uveden ve výši 83 %. γ -CD-N-butan-1,4-diyl-NH₂ připravil také Ikeda et al.⁴⁴ reakcí 6^l-O-naftalen-2-sulfonyl- γ -CD s butan-1,4-diaminem v DMF ve výtěžku 83 %. Tento derivát byl použit po další modifikaci jako chemosenzor.

Suzuki et al.⁴⁵ se pokusil o přípravu selektivního chemosenzoru hydrogenuhličitanových iontů. Jedním z intermediátů při přípravě této supramolekuly byl i γ -CD-N-4-aza-heptan-1,7-diyl-NH₂. Výchozími látkami pro tuto syntézu byly 6^l-O-(2,4,6-triisopropylbenzensulfonyl)- γ -CD a 4-aza-heptan-1,7-diamin a reakce probíhala bez dalšího přidaného rozpouštědla. I přes uvedený výtěžek 34 % nejsou předloženy žádné měřené charakteristiky nově připravené látky.

CD-S-X-NH₂

I v této skupině je nejčastěji syntetizovanou látkou derivát se substituentem obsahujícím pouze dvě methylenové jednotky. β -CD-S-ethan-1,2-diyl-NH₂ byl v nejvyšším výtěžku 81 % připraven reakcí 6-tosyl- β -CD a cysteaminu hydrochloridu ve směsi DMF a H₂O v poměru 1:3 s přidavkem hydrogenuhličitanu amonného. V roce 2007 tuto práci publikoval Wenz et al.⁴⁶ za účelem přípravy receptoru camptothecinu, léku pro léčbu rakoviny.

V roce 1997 Reetz et al.⁴⁷ publikoval práci, v které popsal přípravu již zmíněného β -CD-S-ethan-1,2-diyl-NH₂, ale také β -CD-S-propan-1,3-diyl-NH₂ a β -CD-S-butan-1,4-diyl-NH₂ dvoukrokovou syntézou (viz schéma 3). Produkty byly použity pro tvorbu komplexu rhodia vhodného pro katalýzu hydrogenace a hydroformylace terminálních alkenů. Možná díky tiskové chybě není ale článek kompletní a popisy metod přípravy ani jejich výtěžky nejsou uvedeny.

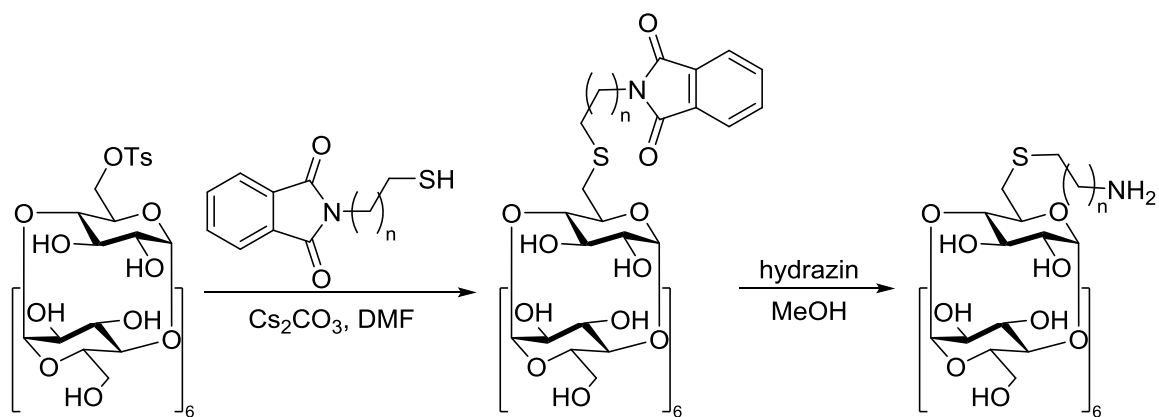
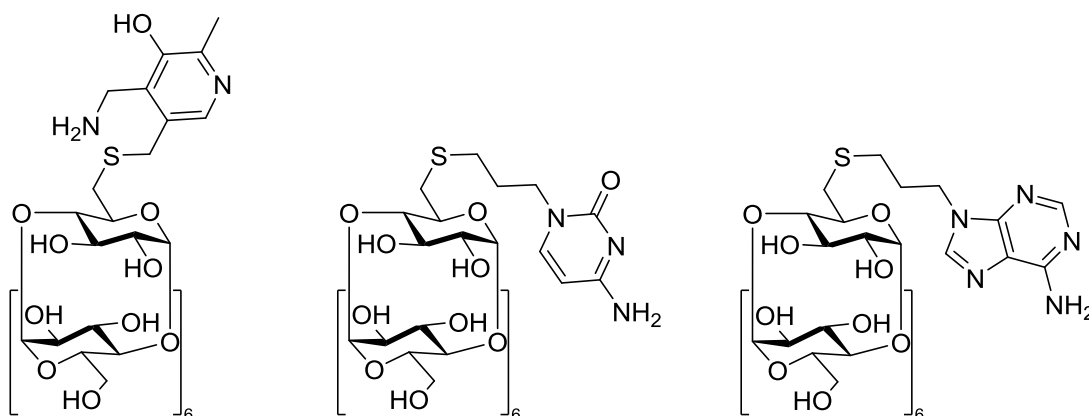


Schéma 3: Příprava β -CD-S-X-NH₂ metodou dle Reetze.

Breslow et al.⁴⁸ připojil na CD derivát pyridoxaminu. Reakce proběhla spojením 6-tosyl- β -CD s příslušnými merkaptaminem ve vodném roztoku hydrogenuhličitanu amonného v 50% výtěžku. Produkt, jehož struktura je znázorněna na obrázku 6, byl použit pro konstrukci umělého enzymu s transaminasovou aktivitou.

Nukleové kyseliny cytosin a adenin vázal na CD skelet přes atom síry Kanematsu et al.⁴⁹ (viz obr. 6). Reakce probíhala mezi 6-tosyl- β -CD a deriváty nukleových kyselin, na jejichž jeden atom dusíku byl předem připojen 3-sulfanylpropan. Rozpouštědlem byl 30% vodný roztok ethanolu a bylo dosaženo výtěžku 20 resp. 27 %.



Obr. 6: β -CD-S-X-NH se substituenty deriváty pyridoxaminu, cytosinu a adeninu.

Fujita et al.⁵⁰ připojil na CD přes síru L- a D-cystein reakcí tosyl derivátu β -CD s danou aminokyselinou ve směsi vody a DMF v poměru 2:1 s přidavkem uhličitanu sodného. Tyto produkty byly přímo podstoupeny další reakci bez charakterizace a i bez uvedení výtěžku.

Jelikož úseky DNA obsahují amino skupiny, lze do skupiny CD-S-X-NH₂ zahrnout i látky připravené v rámci dvou publikací stejných autorů^{51,52}. Strategie přípravy se v tomto případě od předešlých liší zásadním způsobem, přestože je i zde hlavním intermediátem 6-tosyl- β -CD. Ten byl v prvním kroku přeměněn reakcí s thiomocovinou na 6^I-deoxy-6^I-sulfanyl- β -CD. Dalším krokem byla reakce s předem upravenou DNA, jejíž jeden konec nesl sulfanylovou skupinu. Reakce, při které vzniká disulfidický můstek mezi oběmi výchozími látkami, byla provedena v 10mM fosfátovém pufru o pH 7,2. Ani v jedné z publikací nejsou uvedeny výtěžky oxidačního kroku.

Zatím nebyl připraven ani jeden α -CD-S-X-NH₂. Fujita et al.⁵³ se stejně jako v případě β -CD pokusil připojit L- a D-cystein i na γ -CD. I přes publikovaný úspěch nelze v článku dohledat způsob přípravy, výtěžek ani charakterizaci daných látek.

CD-N-X-SH

I v této skupině látek je hlavním intermediátem tosyl derivát příslušného CD. Dosud připravenými deriváty s nejkratší spojkou jsou CD-N-ethan-1,2-diyl-SH, které byly připraveny od α - i β -CD. Syntéza probíhala stejnou strategií, a to reakcí příslušného CD s cysteaminem po jeho oxidaci na příslušný disulfid – cystamin (v případě derivátu β -CD je tosylovaný intermediát před reakcí s disulfidem z nepopsaných důvodů převeden na 6¹-deoxy-6¹-jod- β -CD). Následnou redukcí disulfidické vazby vznikal v obou případech kýžený produkt syntézy.

Matsui et al.⁵⁴ provedl reakci 6-tosyl- α -CD s cystaminem hydrochloridem v pyridinu. Necharakterizovaný disulfid byl podstoupen redukcí s ethanthiolem, který zde zastupoval i roli rozpouštědla. Finální produkt byl charakterizován pouze ¹H-NMR (300 MHz) experimentem, v jehož výpisu spektra chybí 12 ze 48 vodíků, které daná molekula obsahuje. Publikovaný výtěžek tříkrokové reakce zahrnující tosylování α -CD, reakci s cystaminem a redukcí disulfidické vazby je 87 %. Derivát připravený touto sérií reakcí byl následně vázán na povrch zlata. Díky popsáným skutečnostem lze ale minimálně o výtěžku reakce velmi pochybovat.

Syntézu β -CD-N-ethan-1,2-diyl-SH popsal Tagaki et al.⁵⁵ důkladněji. Jak již bylo zmíněno, 6-tosyl- β -CD byl nejprve převeden na příslušný jodid reakcí s jodidem draselným v DMF, v kterém probíhala i následná nukleofilní substituce cystaminem. Meziprodukt reakce charakterizovaný ¹H-NMR (400 MHz) byl podstoupen redukcí disulfidu opět v ethanthiolu. Výtěžek redukčního kroku byl 85 %. Účelem syntézy byla příprava umělého enzymu schopného katalyzovat přeměnu α -ketoaldehydů na α -hydroxykarboxylové kyseliny.

Mao et al.⁵⁶ v roce 2011 publikoval přípravu derivátu CD, který vzniká reakcí L-cysteinu s β -CD. V tomto článku popisuje produkt, který vzniká navázáním této aminokyseliny přes atom dusíku, zatímco sulfanylová skupina reakci nepodléhá. Experiment probíhal reakcí 6-tosyl- β -CD s L-cysteinem ve vodě s přídavkem triethanolaminu. Stejně podmínky použil i pro přípravu dalších derivátů CD, jejichž substituentem byly L-histidin, L-fenylalanin resp. L-tryptofan, tedy aminokyseliny bez přítomné SH skupiny. Derivatizace pomocí L-cysteinu proběhla s nejvyšším výtěžkem 65 %, oproti ostatním aminokyselinovým derivátům, které byly připraveny ve výtěžcích 16 – 46 %. I tato skutečnost zvyšuje podezření, že L-cystein byl na CD skelet ve skutečnosti připojen přes síru a ne přes atom dusíku, jak popisují autoři. Charakterizace látky byla provedena pouze hmotnostní spektrometrií a elementární analýzou. Z těchto

informací ovšem nelze díky stejnému sumárnímu vzorci mezi oběma potenciálními produkty rozlišit. Vzniklé látky byly využity pro přípravu nanočástic schopných přenosu siRNA.

Jinou strategii pro připojení cysteinu na molekulu β -CD použil Brunsveld et al.⁵⁷ 6-Tosyl- β -CD byl totiž nejprve převeden na β -CD-N-ethan-1,2-diyl- NH_2 , následovala reakce s derivátem L-cysteinu, jehož sulfanylová skupina byla chráněna trifenylmethylovou (tritylovou, Trt) skupinou, zatímco amino skupinu chránil t-butyloxykarbonyl (Boc). Karboxylová skupina byla derivatizována sukcinimidem. Po reakci s CD následovalo odchránění atomů síry a dusíku za vzniku derivátu CD, který lze zařadit mezi β -CD-NH-X-SH. Tento produkt byl použit pro tvorbu samoskladných struktur proteinů. Schéma 4 popisuje zmíněnou syntézu včetně jejích výtěžků.

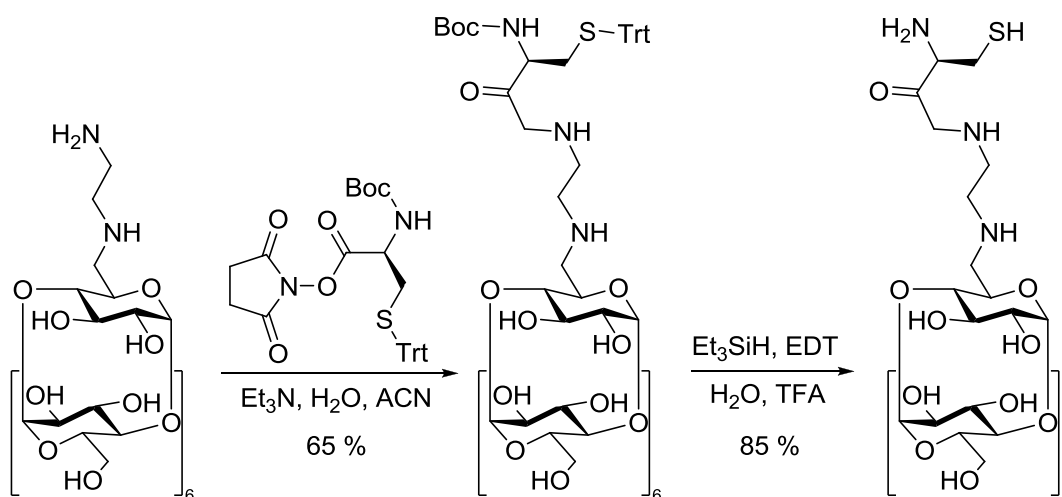


Schéma 4: Syntézy β -CD-N-X-SH derivátu publikovaného Brunsveldem.

3.3. Pevné povrchy a cyklodextriny

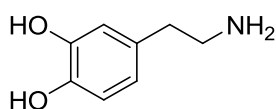
Jedním z nejvýznamnějších problémů životního prostředí je jeho znečištění aromatickými organickými sloučeninami⁷. Zejména substituované fenoly a jiné benzenové deriváty, které jsou odpadními produkty mnoha industriálních procesů v zemědělství, lesnictví, nebo zpracovatelském průmyslu, se díky své nízké biodegradabilitě zadržují v přírodě, a způsobují tak mnoho problémů. Za účelem jejich eliminace z půdy a vody, ale také za účelem jejich identifikace a charakterizace bylo zvláště v posledních desetiletích vyvinuto mnoho kvalitativních i kvantitativních analytických metod, zvláště pak chromatografických. Pro selektivní adsorpci těchto polutantů bylo nutné povrchy organických i anorganických stacionárních fází používaných pro běžné separace vhodně modifikovat. Jednou z těchto modifikací je i imobilizace látek schopných specificky interagovat s polutanty na takových nosičích a vytvořit tak selektory pro chromatografické nebo elektromigrační metody. A právě za tímto účelem byly na anorganické, organické i polymerní nosiče vázány první cyklodextriny.

Jinými aplikacemi imobilizovaných CD jsou např. optické detektory⁵⁸ a jiné senzory⁵⁹ nebo nosiče léčiv⁶⁰.

Existují dva používané způsoby, jakými lze cyklodextriny inkorporovat do struktury jiného materiálu⁷. První je polymerace hydroxylových skupin CD se „spojovacím“ činidlem za tvorby nerozpustných prosítovaných gelů nebo rozpustných polymerů či kopolymerů. Druhou variantou je vázat CD kovalentní vazbou na povrch nerozpustného materiálu pomocí různých spojovacích ramen. Těmito „reaktivními povrchy“ mohou být např. organické nebo polymerní materiály, kovy nebo anorganické částice. Mezi takové povrchy mohou být tedy zařazeny i dopaminový polymer a zlato.

3.3.1. Dopaminový polymer

Dopamin⁶¹, 4-(2-aminoethyl)benzen-1,2-diol (viz obr. 7), je látka ze skupiny katecholaminů a v těle živočichů funguje hlavně jako neurotransmiter a neurohormon.



Obr. 7: Struktura dopaminu.

Přestože elektrochemická oxidace dopaminu byla studována již v 70. letech, zásadní zlom ve studiu dopaminu jako povlakového materiálu přinesla až publikace

Messersmitha et al.⁶². Díky pozorování přichycení škeblí (*Mytilus edulis*) na téměř jakýkoliv pevný povrch pomocí velmi adhezivní směsi proteinů bohatých na dopamin a lysin, objevil Messersmith jednoduchou metodu tvorby dopaminového polymeru, který vzniká pouhým ponořením substrátu do bazického roztoku dopaminu. Výhodou tvorby tohoto povlaku je možnost kontroly tloušťky vytvořeného filmu, jeho stabilita, ale hlavně nulová selektivita pro podkladový materiál.

Přesný mechanismus tvorby polymeru zatím není znám, jde o komplexní redoxní proces s velkým množstvím meziproductů i koncových struktur, jejichž charakter závisí na podmínkách polymerace⁶³. Zjednodušený předpokládaný mechanismus je naznačen ve schématu 5. Molekula bicyklického 5,6-dihydroxyindolu (ve schématu 5 ve spodní části uprostřed) je schopna polymerovat tvorbou kovalentních vazeb vedoucích z uhlíkových atomů v pozicích 2, 4 a 7 v různých kombinacích.

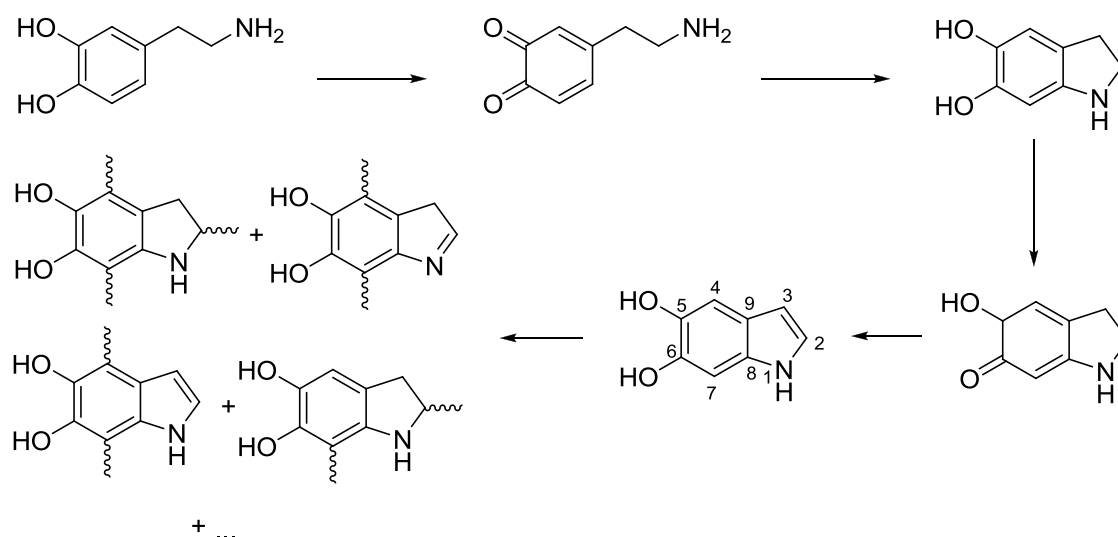


Schéma 5: Předpokládaný mechanismus polymerace dopaminu.

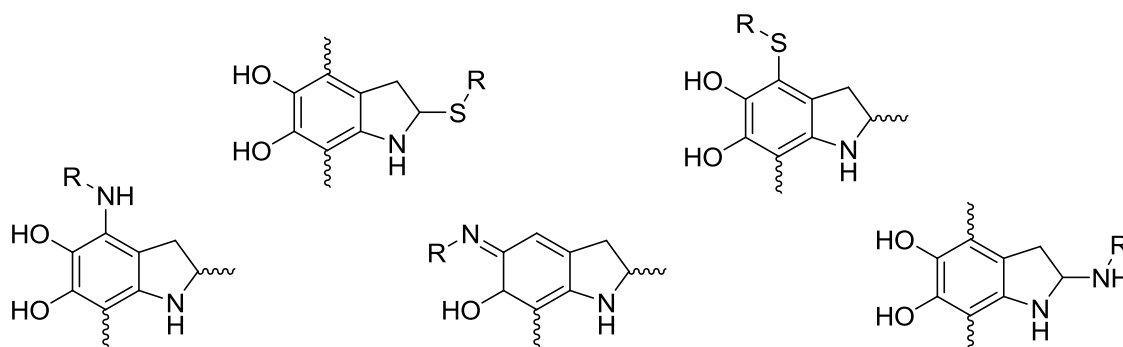
Polydopamin se vyznačuje pozoruhodnými chemickými, optickými, elektrochemickými i redoxními vlastnostmi. Navíc je biokompatibilní a biodegradabilní, a tedy možný využít pro medicínální účely.

I přes svou krátkou historii si polydopamin získává pozornost vědců z rozdílných oborů a nachází své využití nejen v materiálové vědě, ale i ve farmacii, chemii životního prostředí, analytické chemii či energetice.

Vazba thiolů a aminů na polydopaminový film

Nejvíce využívanou vlastností polydopaminového materiálu je schopnost tvorby kovalentních i nekovalentních vazeb s řadou molekul. Zatímco nekovalentní způsob vazby

představuje schopnost chelatace atomů kovů a tvorbu π - π interakcí s aromáty, kovalentní vazbu může vytvářet reakcí s terminálními aminy a thioley. Tuto vazbu tvoří SH i NH_2 skupiny při reakci Michaelovskou adicí s polydopaminovým uhlíkem v poloze 2, zároveň jsou aminy schopny tvorby Schiffových bází reakcí s karbonylem po oxidaci katecholové části monomerní jednotky na chinon. Oba tyto procesy, jejichž produkty jsou znázorněny na obrázku 8, jsou zahájeny pouhým ponořením polydopaminem potaženého substrátu do slabě bazického roztoku thiolu nebo aminu ve vodě nebo v dichlormethanu.



Obr. 8: Produkty reakce polydopaminu s aminy a thioley Michaelovskou adicí a tvorbou Schiffovy báze.

Už Messersmith et al.⁶² ve svém průkopnickém článku demonstroval tvorbu vazby thiolů a aminů na polydopaminový film vytvořením vrstvy alkanthiolů, amino a sulfanylových derivátů polyethylenglykolů a částečně sulfanylované hyaluronové kyseliny na jeho povrchu.

I další vědecké skupiny imobilizovali na povrchu dopaminového polymeru deriváty polyethylenglykolů. Wang et al.⁶⁴ je například použil pro tvorbu vrstvy v elektroforetické kapiláře vhodné pro separaci proteinů. Oproti tomu ethyleniminy vázal na polydopaminem potažený kovový povrch Rittschof et al.⁶⁵ za účelem vytvoření nerezového povrchu.

Uplatnění v oblasti analytické chemie by mohli najít povrchy dopaminového polymeru se zachycenou vrstvou proteinů. Takovouto stacionární fází pro chirální separace elektrochemickými metodami na čipu studoval Qiu et al.⁶⁶ Pro separaci látek lze využít i membrány s poly-(N-isopropylakrylamidem) zakončeným amino skupinou imobilizovaným na polydopaminu⁶⁷ nebo uhlíkové nanotrubky zachycené na kovovém drátu potaženém polydopaminem vhodné pro mikroextrakce⁶⁸.

Po vzoru Messersmitha et al. vázal alkanthioly na polydopamin i Cai et al.⁶⁹ Vše umístil na vnitřní stěnu PET lahve, ve které zkoumal možnosti odstranění polutantů z vody.

Polydopamin lze použít i pro farmaceutické aplikace. To demonstroval Caruso et

al.⁷⁰, který vytvořil nanočástici fungující jako nosič doxorubicinu – potenciálního léku pro léčbu rakoviny.

Zhu et al.⁷¹ se rozhodl polymerovat dopamin na povrchu nanočástic. Vytvořil tak velmi složitou makrostrukturu, jejíž jádro bylo tvořeno oxidy železa. Na tento systém s navázanou fluorescenční sondou připojil také aptamer, a tak byl tento systém schopen lokalizovat místo výskytu rakovinových buněk. Podobný, ale jednodušší systém díky nepřítomnosti fluoroforu vytvořil tentokrát na zlatých částicích stejným způsobem Rahman et al.⁷². Tento systém díky aptamerům citlivým na trombin by tak mohl pomoci při diagnostice cévních mozkových příhod.

Do dnešního dne nebyla publikována žádná práce, která by popisovala vazbu cyklodextrinových aminů nebo thiolů na polydopaminový polymer.

3.3.2. Zlato

Od roku 1983, kdy Nuzzo et al.⁷³ objevil vazbu síru obsahujících látek na povrch zlata, se vytváření těchto thiolových samoskladných struktur stalo doslova hitem⁷⁴. Spojení síry a zlata se tak na několik dalších let stalo klíčovým prvkem tvorby mnoha systémů s širokými aplikacemi v oboru nanotechnologie a je dodnes považováno za nejvýznamnější pro konstrukci samoskladných monovrstev, a to i přes objevení možnosti tvorby povlaků sirných sloučenin na površích stříbra, mědi, palladia, platiny, železa i některých polovodičů. Ačkoliv bylo dosaženo mnoha pokroků v poznání tohoto dvojdimenzionálního systému, v porozumění veškerých aspektů jeho tvorby zůstávají stále černá místa.

Přestože lze vrstvu širokého spektra organických látek obsahujících síru vytvořit na zakřivených plochách i na nanočásticích, výzkum jejího vzniku na molekulární úrovni se omezuje především na rovné povrchy a alkanthioly. Proti klasické původní představě, že vazba S-Au je statická a povrch zlata se při její tvorbě nemění, moderní metody výzkumu ji vidí spíše jako dynamickou interakci, jejímž vznikem se kov deformuje.

Prvním krokem mechanismu je pravděpodobně fyzisorpce následovaná chemisorpcí, při které je štěpena vazba S-H thiolů za ztráty vodíkového atomu. Ani množství technik (např. vibrační nebo hmotnostní spektrometrie), kterými byl tento proces zkoumán, nepřineslo rozluštění, zda intermediátem sirné sloučeniny je iont, radikál nebo jiná částice. Stejně nejasný osud má i odštěpený atom vodíku. Nejčastěji akceptovanou teorií je, že reaguje za vzniku molekuly H₂. Každopádně vazba S-Au se zdá být kovalentní a chemický stav síry je stejný jako v thiolátech. Pravděpodobný průběh je znázorněn ve schématu 6. Následuje tzv. krystalizace, jejímž výsledkem je vysoce uspořádaný systém.

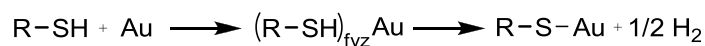


Schéma 6: Pravděpodobný proces imobilizace thiolů na povrchu zlata.

Z pohledu kinetiky je první fáze (fyzi- i chemisorpce) velmi rychlá, trvá jen několik minut a kontaktní úhel a tloušťka vrstvy dosahují 80 – 90 % konečných hodnot. Naproti tomu dokončení druhého kroku (krystalizace) vyžaduje několik hodin.

Z praktického hlediska lze sloučeniny na zlatě zachytit vystavením kovového povrchu 10 – 1000 μM roztoku sirných derivátů v širokém spektru rozpouštědel. Těkavé látky obsahující síru lze vázat i z plynné fáze. Povlak je za běžných podmínek stabilní, lze ho však degradovat ethanolem, ozonem, UV zářením nebo vysokou teplotou. Míra porušení závisí nejen na druhu imobilizované sloučeniny, ale i hrubosti povrchu kovu a podmínkách sorpce.

V oblasti nanotechnologií našly tyto samoskladné struktury využití jako ultratenké povrchy pro zamezení koroze kovů a snížení tření, jako stavební jednotky senzorů, molekulárních motorů a nanopřístrojů nebo jako nosiče biomolekul. Nejvíce se jich ale využívá pro stabilizaci nanoobjektů.

Zlato a cyklodextriny

Cyklodextriny se na zlatý povrch pokoušelo zachytit mnoho vědeckých skupin. V literatuře lze tak najít více než 100 článků, které tuto vazbu popisují. Většina z nich se však omezuje jen na několik málo typů CD derivátů. Nejoblíbenějšími jsou zejména 6^I-deoxy-6^I-sulfanyl-CD a per-6-deoxy-per-6-sulfanyl-CD. Do následujících odstavců byly tedy vybrány pouze články s největším citačním ohlasem.

Jako první vázal cyklodextriny na pevný povrch zlata Jarzabek et al.⁷⁵ již v roce 1990. V publikovaném článku studoval základní vlastnosti CD vrstvy a 50% pokrytí dosáhl v roztoku o koncentraci jen $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$.

Kaifer et al.⁷⁶ zvolil vhodnou látkou pro tvorbu monovrstvy per-6-deoxy-per-6-sulfanyl-β-CD. V této publikaci popisuje problémy tvorby homogenní vrstvy při použití sedmkrát sulfanylovaného cyklodextrinu. Nicméně tento systém použil pro detekci látek schopných inkluze do CD kavity s dobrými výsledky.

Asi nejzajímavější studii těchto samoskladných struktur vypracoval Wenz et al.²⁸ na látkách typu β-CD-S-X-SH. Díky připraveným sloučeninám, které se lišily množstvím sulfanylových skupin, délkou i charakterem řetězce, byl schopen porovnat získané hodnoty a vybrat ideální systém. Ze získaných výsledků usoudil, že 6^I-deoxy-6^I-sulfanyl-β-CD vytváří nejméně hustě pokryté povrchy právě z důvodu nepřítomnosti řetězce. Důvodem je

malá možnost „uhýbání“ dalším kavitám CD schopným se vázat na povrch. Podobné výsledky získal i v případě per-6-deoxy-per-6-((10-sulfanyldekan-1-yl)sulfanyl)- β -CD, tedy CD s primárním okrajem derivatizovaným sedmi řetězcí délky deseti methylenových skupin. Ani tyto deriváty nemají díky příliš pevné vazbě možnost pohybu. Naopak, pokud na primární okraj připojil pouze jediný řetězec, vytvořený povrch byl nejen nehomogennější, ale i nejhustěji pokrytý. O něco lepších výsledků dosáhl, pokud spojkou mezi dvěma atomy síry byl dekan-1,10-diyl než 3,6-dioxa-oktan-1,8-diyl. Vysvětlením je možnost vzniku interakcí nepolárních řetězců alkanů, které přibližují CD ještě více k sobě. V případě vazby CD na povrch pouze na jednom místě může být jistou nevýhodou, že osa kavity CD není kolmá na povrch zlata. Takovýto systém by mohl bránit inkluzi analytů do dutiny. Tato domněnka ale nebyla potvrzena experimentálně.

V další publikaci stejných autorů je řešena⁷⁷ kinetika imobilizace popsaných derivátů. Jsou zde učiněny následující závěry: spontánní chemisorpce je ztížena díky geometrii CD derivátů a trvá tedy několikanásobně déle než v případě alkanthiolů (až několik hodin); kromě chemisorpcí a fyzisorpcí vytvářených monovrstev mohou CD tvořit i nežádoucí přídatné vrstvy; kinetika sorpce se tedy skládá ze tří na sebe navazujících dějů – fyzisorpce, samotná vazba spojená se změnou orientace vázaných struktur a tvorba přídatných vrstev.

Reinhout et al.⁷⁸ v roce 1998 imobilizoval na zlato 2 druhy β -CD derivátů. Primární okraj prvního byl substituován řetězcí zakončenými sulfanylovou skupinou zatímco druhý obsahoval 7 substituentů v polohách 6 se sulfidovou vazbou uprostřed řetězce. Došel k překvapivému objevu – zatímco sulfidy se průměrně vážou 4,5 vazbami připadajícími na 1 molekulu CD, thioly se vážou jen průměrně 3,2 krát. I přes svůj význam nevedlo toto zjištění k zásadnímu obratu ve zkoumání vazby CD na zlato.

Jak již bylo zmíněno, nejčastěji vázanými deriváty CD na povrch zlata jsou 6^I-deoxy-6^I-sulfanyl-CD. Podrobněji kinetiku sorpce a vlastnosti povrchu studoval i v tomto případě Reinhout et al.⁷⁹ Zjistil, že tento derivát pokrývá zlato pouze ze 60 % a pro použití takto pokrytých elektrod pro analytické účely je nutné volná místa zaplnit přídavkem např. alkanthiolů. Tímto zjištěním velmi ovlivnil výzkum v této oblasti a ve všech publikacích, ve kterých jsou studovány vlastnosti CD modifikovaných elektrod, po imobilizaci těchto oligosacharidů následuje krok vyplnění děr ve vrstvě přídavkem jednoduchých thiolů⁸⁰. Takto pokryté elektrody pak byly zkoumány jako např. potenciální chemosenzory⁸¹.

6^I-Deoxy-6^I-sulfanyl- β -CD je také často používán pro tvorbu povlakovaných

nanočástic. Hned několik článků se zabývá pouze jejich charakterizací a základními vlastnostmi⁸². Jiné studují možnosti využití těchto nanostruktur jako např. ultraselektivních detektorů insekticidů⁸³, nosičů léčiv⁸⁴, umělých enzymů²¹ nebo látek schopných štěpit DNA⁸⁵.

Také per-6-deoxy-per-6-sulfanyl- β -CD je v této oblasti často zkoumaným derivátem. Na povrch zlaté elektrody ho vázal Paz et al.⁸⁶ se snahou vytvořit metodu pro fotokatalytickou degradaci polutantů. V nanoměřítu pracoval Ozaki et al.⁸⁷ a Kaifer et al.⁸⁸. První ze jmenovaných zkoumal možnosti využití nanočástic pro kvalitativní detekci i kvantitativní analýzu PAHů, druhý pak možnost řízení agregace částic zlata jednoduchou hostitel-host interakcí s ferocenem.

Složitější molekuly CD obsahující síru ve své struktuře byly použity po vazbě na zlato pro rozdělení fullerenu C₆₀ a C₇₀ (lit. 89), tvorbu polymerního hydrogelu⁹⁰ nebo jako fluorescenční sondy⁹¹.

4. Výsledky a diskuse

4.1. 6^I-*O*-*p*-Toluensulfonyl-β-CD (6-tosyl-β-CD, **1**)

Přestože lze v literatuře objevit množství článků popisujících přípravu tohoto CD derivátu, v některých případech tyto přípravy vzbuzují pochybnosti, jelikož neuvádějí žádnou separaci výchozí látky a produktů. Z pouhé logiky věci je však jasné, že v reakční směsi se kromě nezreagované výchozí látky nachází i směs mono-, di- i vícesubstituovaných derivátů.

Jelikož byl v nedávné době publikován postup⁹² přípravy sloučeniny **1** reakcí β-CD s *p*-toluensulfonylchloridem (tosylchloridem) ve vysokém výtěžku 53 %, byl tento postup v rámci mé diplomové práce vyzkoušen. Dle TLC se ale ani po 24 hodinách (oproti publikovaným 4 hodinám) nepodařilo dosáhnout podobných výsledků. Reakční směs byla přesto zpracována rekrytalizací ze směsi MeOH:H₂O (1:1) a následnou chromatografií na silikagelu s reverzní fází. Výtěžek čistého produktu reakce však nepřesáhl 10 %.

Z důvodu tohoto neúspěchu jsme se rozhodli uchýlit k přípravě⁹³ látky **1** z β-CD a *p*-toluensulfonylanhydridu (tosylanhydridu, **2**), tedy metodou v naší laboratoři již ověřenou. Tuto sloučeninu **2** lze kvantitativně připravit⁹³ reakcí tosylchloridu s monohydrátem *p*-toluensulfonové kyseliny v poměru 1:4. Navíc tato metoda nevyžaduje složitou separaci a produkt je získán v čisté formě po pouhé filtraci nezreagované kyseliny a následné krystalizaci.

Již podle TLC bylo možné detekovat, že látka **1** vznikla při reakci s látkou **2** ve větší míře než v případě reakce s tosylchloridem. Navíc separační krok nevyžadoval chromatografii a čistý produkt byl získán opakovanou krystalizací ve výtěžku 24 % (viz schéma 7). V uvedeném výtěžku je zahrnut i publikovaný¹ fakt, že výchozí β-CD obsahuje 13 % krystalové vody.

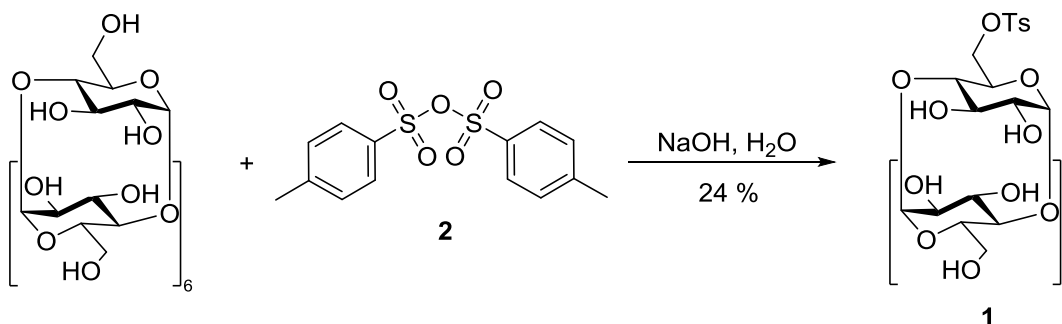


Schéma 7: Syntéza 6^I-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-CD (**1**).

4.2. 6^I-Deoxy-6^I-sulfanyl-β-CD (3)

V literatuře je popsáno několik postupů přípravy látky **3**. Jeden z nich⁹⁴ zahrnuje reakci **1** a thiomočoviny s použitím mikrovlnného reaktoru. Výhodou tohoto postupu je časová úspora, kdy kýžený produkt vzniká již po 25 minutách při teplotě 100 °C a nastaveném výkonu 100 W. Po provedení reakce a po separaci zahrnující srážení a filtraci sraženiny byla předpokládaná vzniklá thiouroniová sůl CD hydrolyzována vodným roztokem hydroxidu sodného. Po následném okyselení reakční směsi a po separaci srážením, rekrystalizací a chromatografií byl získán produkt reakce ve vysokém výtěžku. Dle změřeného hmotnostního spektra se ale nejednalo o produkt **3**, ale o 3,6-anhydro-β-CD, který pravděpodobně vznikl již v mikrovlnném reaktoru.

Produkt **3** byl proto připraven dle jiného publikovaného postupu⁹⁵, kdy je sloučenina **1** klasicky zahřívána s thiomočovinou ve směsi methanolu a vody. Po hydrolyze thiouroniové soli CD a následné separaci okyselením a vysrážením komplexu **3** s 1,1,1-trichlorethanem byla sloučenina **3** získána chromatografií na silikagelu. Výtěžek reakce byl ale pouhých 22 % (viz schéma 8). To mohlo být způsobeno příliš zdlouhavou separací, při které se může produkt oxidovat za vzniku disulfidu. Jelikož se ale nejednalo o stěžejní syntézu tohoto projektu, nebyla dosud opakována.

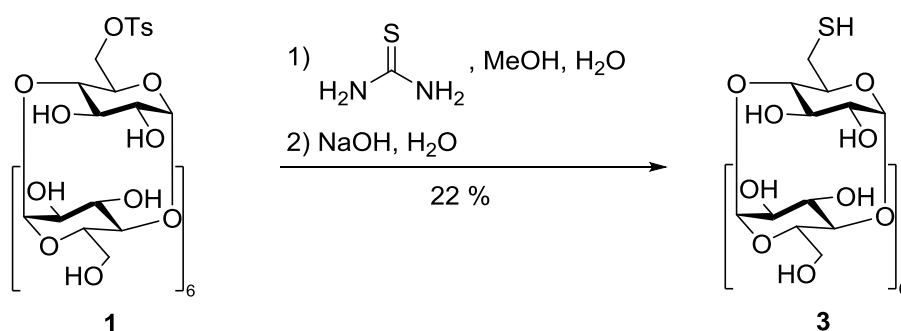


Schéma 8: Příprava 6^I-deoxy-6^I-sulfanyl-β-CD (**3**).

V současnosti uvažujeme o přípravě této látky dvoukrokovou syntézou, kdy v prvním kroku vzniká 6^I-deoxy-6^I-thioacetát-β-CD* reakcí thioacetátu draselného s 6-tosyl-β-CD (**1**). Druhým krokem je kyselá hydrolyza za vzniku produktu **3**. Tento postup by díky stálosti thiolů v kyselém prostředí zamezil oxidaci na disulfid. Tato metoda zatím nebyla publikována, my jsme ale tuto reakční sekvenci použili při přípravě derivátů oligoethylenglykolů ve výborných výtěžcích (viz níže).

* Zde i v dalším textu bude thioacetátem myšlen S-thioacetát.

4.3. β -CD-S-X-SH

Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.2.3, syntéza tohoto typu látek byla popsána pouze ve dvou publikovaných člancích, z nichž pouze jeden²⁸ uvádí výtěžky a charakterizaci daných produktů. Získané produkty β -CD-S-3,6-dioxaoktan-1,8-diyl-SH a β -CD-S-dekan-1,10-diyl-SH byly připraveny reakcí 6-tosyl- β -CD (**1**) s příslušných dithiolem ve 20% vodném roztoku ethanolu s přidavkem uhličitanu sodného, přičemž bylo dosaženo výtěžku 20 resp. 17 %. Touto publikací jsme se tedy nechali v začátcích inspirovat.

Díky dostupnosti oktan-1,8-dithiolu byly reakční podmínky optimalizovány právě při jeho reakci se sloučeninou **1**. Separace popsaná ve zmíněném článku se sestávala z filtrace nerozpustného materiálu, okyselení kyselinou chlorovodíkovou na pH = 4, oddělení nezreagovaného dithiolu extrakcí, neutralizace vodné fáze hydroxidem sodným, opětovného okyselení do pH = 4, vysrážení produktu s 1,1,1-trichlorethanem a filtrace produktu, který byl následně čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s reverzní fází. I přes opakovanou snahu tento postup zopakovat se nám nepodařilo získat kýžený produkt **4g** v dostatečné čistotě, dle MS byl ale v reakční směsi detekován. Navíc během opakovaného okyselování a neutralizací se produkt nejenom obohacoval o vznikající soli, ale také o produkty vlastní oxidace na disulfid. Problémem bylo nejenom provedení samotné reakce, při které byl kromě výchozí látky zjištěn i vznik hned několika dalších produktů, ale i nízká rozpustnost směsi ve vodě nebo ve směsi vody s alkoholy. Předpokládali jsme, že tato nerozpustnost může být způsobena inkluzí lipofilního alkanového řetězce do kavity CD. Vzhledem k předpokládanému využití těchto CD derivátů pro vazbu např. na dopaminový polymer, kdy je nutné CD deriváty rozpustit ve vodě a zároveň je nutné, aby kavita nebyla obsazena pro možnou inkluzi, by byla tato nízká rozpustnost problémem. Rozhodli jsme se proto alkanový řetězec nahradit ethylenglykolovým, což je běžná praxe při snaze zvýšit rozpustnost CD nebo zamezit inkluzi³⁷.

V tomto případě bylo ale nutné dithiolové spojky nejprve připravit. Byla zvolena reakční sekvence znázorněná ve schématu 9.

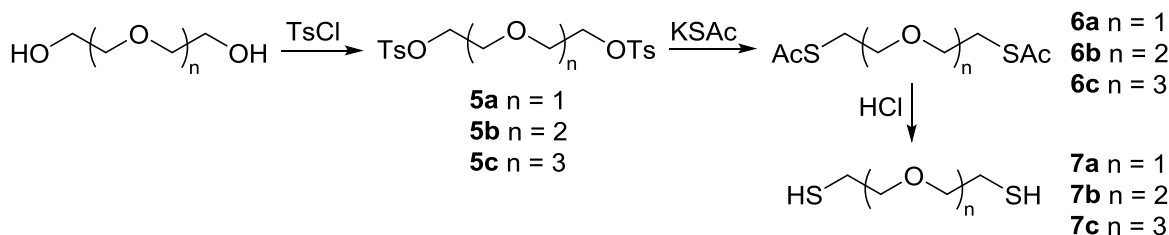


Schéma 9: Příprava disulfanylových derivátů oligoethylenglykolů.

Jejím prvním krokem je ditosylace oligoethylenglykolu následovaná bis(thioacetylací). V posledním kroku reakce vzniká výsledný dithiol deacetylací. Výchozími látkami byly zvoleny di-, tri- a tetraethylenglykol[†] z důvodu jejich snadné dostupnosti. Navíc Ng et al.⁹⁶ ve své publikaci zabývající se imobilizací CD derivátů na povrchu zlata studoval vhodnou délku řetězců pro navázání CD na pevné povrchy a inkluzní schopnosti takto připravených monovrstev. Zjištěnou ideální délkou je 13 atomů mezi CD skeletem a koncovou skupinou substituentu, což odhadem odpovídá délce TeEG. Podobných výsledků bylo dosaženo⁹⁷ i při studiu vazby CD derivátů na povrch porézního křemíku publikovaných naší skupinou.

Ditosylace probíhala dle popsaného postupu v literatuře⁹⁸ reakcí oligoethylenglykolu s tosylchloridem. V tomto případě díky kvantitativním výtěžkům při použití tosylchloridu nebylo nutné provést reakci s tosylanhydridem, který je nutné připravit (viz výše). Separace látek **5a**, **5b** resp. **5c** byla realizována pouhou extrakcí a jedinou obtíží byla práce s viskózním gelem, který např. derivát TeEG (**5c**) tvoří.

Dalším krokem byla bis(thioacetylace). I tato reakce je popsána v literatuře. Vycházeli jsme ze dvou publikovaných článků^{99,100}. V obou případech jde o reakci ditosylátu příslušného oligoethylenglykolu (**5a**, **5b** nebo **5c**) s thioacetátem draselným, rozdílné je však použité rozpouštědlo. Zatímco v prvním případě⁹⁹ probíhá reakce v acetonu s přidavkem katalytického množství jodidu sodného, v druhém případě¹⁰⁰ je reakce provedena v DMF. V prvním případě není výtěžek uveden, v druhém případě je pro uvedený derivát **10** výtěžek pouhých 36 %. Optimalizace podmínek probíhala na přípravě látky **6c**. Separace produktu se skládala z extrakce a chromatografie na silikagelu. Reakcí v DMF se podařilo získat produkt v dobrém 69% výtěžku, v acetonu s přidavkem jodidu sodného probíhala reakce ještě ochotněji a produkt vznikal dokonce ve výtěžku 94 %. Ne tak vysokých, ale přesto uspokojivých výsledků, bylo dosaženo i při přípravě sloučenin **6a**

[†] Pro přehlednost budou v následujícím textu názvy oligoethylenglykolů zkracovány následujícím způsobem: Diethylenglykol na DEG a jeho deriváty budou označovány **Za**, kdy Z značí číslo dané série produktů, triethylenglykol na TEG a jeho deriváty **Zb** a tetraethylenglykol TeEG a jeho deriváty **Zc**.

a **6b**.

Poslední krok, deacetylace, byl prováděn kyselou hydrolýzou bis(thioacetátů) **6a**, **6b** a **6c** za vzniku dithiolů **7a**, **7b** resp. **7c**. Předlohou byla opět publikovaná¹⁰⁰ příprava derivátu TeEG **7c**. V prvních pokusech o získání produktu se výtěžek pohyboval mezi 50 – 60 %, což přibližně odpovídalo publikovaným 62 % při přípravě stejného produktu. Když však bylo empiricky zjištěno, že se produkt oxiduje na příslušný disulfid tak rychle, že po týdnu v argonem vyplněné baňce opatřené septem a zaparafilmované, navíc uložené v lednici, zůstane z původního množství pouze méně než 20 % nezoxidovaných thiolů, byla reakce optimalizována. Nejvyššího výtěžku 74 % bylo dosaženo, pokud směs vody, methanolu a kyseliny chlorovodíkové, ve které byla reakce prováděna, byla probublána argonem po dobu minimálně 2 minut, následně 10 minut vystavena ultrazvuku v septem uzavřené baňce se zabodnutou jehlou pro možnost odvodu plynů a poté opět probublána argonem, tentokrát 10 minut. Až následně byl roztok přidán k výchozí látce **6c** do baňky vyplněné argonem. Separace byla provedena extrakcí a chromatografií na silikagelu a veškerá manipulace na vzduchu byla omezena na minimum. Výsledný produkt byl navíc ihned po charakterizaci a kontrole čistoty pomocí ¹H-NMR experimentu podroben dalšímu kroku syntézy, kterým byla reakce s 6-tosyl-β-CD (**1**). I deriváty DEG **7a** a TEG **7c** byly připraveny s podobnými výtěžky, které jsou včetně podmínek jednotlivých kroků popsané reakční sekvence uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků přípravy disulfanyl derivátů oligoethylenglykolů (derivát DEG – $n = 1$, TEG – $n = 2$, TeEG – $n = 3$).

Reakční krok	Lit.	Činidla, aditiva	Rozpouštědla	Teplota / °C	Výtěžek / %		
					$n = 1$ (Za)	$n = 2$ (Zb)	$n = 3$ (Zc)
Ditosylace (Z = 5)	98	TsCl, KOH	DCM	0 – 10	99	99	98
Bis(thioacetylce) (Z = 6)	99	KSAC, NaI	aceton	60	80	86	94
Deacetylce (Z = 7)	100	HCl ^a	MeOH, H ₂ O ^a	120	74	73	74

^a roztok byl zbaven veškerého rozpuštěného kyslíku.

Mimo jiné byl také proveden pokus o připravení dithiolu oligoethylenglykolu přímo z ditosylátu reakcí s thiomocovinou. V tomto případě byl ale produkt **7b** připraven v pouhém 19% výtěžku.

Následoval tedy opět nukleofilní atak 6-tosyl-β-CD dithiolem. Nevýhodou optimalizace této reakce s látkou **7b** byla nutnost přípravy této sloučeniny těsně před reakcí. Použití 20% vodného roztoku ethanolu se nezdálo vhodné, jelikož se v něm zcela

nerozpouštěla ani jedna z výchozích látek. Pro rozpustnost ideální byla směs methanolu a vody v poměru 1:1. Příprava reakční směsi probíhala stejně jako v případě deacetylace oligoethylenglykolů, tedy probubláváním roztoku rozpouštědel s přidavkem uhličitanu sodného argonem a jeho vystavení ultrazvuku. Při použití takovýchto podmínek vznikl dle TLC pouze jediný produkt a výchozí látka po 20 hodinách nebyla téměř detekována. Separaci bylo nutné provést za podmínek, které by co nejvíce zamezily oxidaci na disulfid. Ta je podporována bazickým prostředím, zatímco v kyselých podmínkách se thioley zdají být stabilní. Chromatografie ve směsi *n*-propanolu, vody a koncentrovaného vodného roztoku amoniaku, která je běžně používána pro dělení CD derivátů, byla tedy nevyhovující. Srážením ani krystalizací se výchozí látku **1** od produktu nepodařilo oddělit. Ideální byl postup, kdy po zchlazení reakční směsi na l. t. a po neutralizaci následovalo rozdělení reakční směsi extrakcí mezi chloroform a vodu. Vodná fáze byla poté adsorbována na silikagel a čištěna chromatografií na silikagelu s mobilní fází směsi butanolu, ethanolu a vody. Tímto postupem bylo možno připravit produkty **4a**, **4b** a **4c** ve vysokých výtěžcích 73, 60 resp. 88 % (viz schéma 10).

Navíc bylo zjištěno, že za těchto podmínek lze nezreagovaný dithiol, který je do reakce přidáván v desetinásobku vůči tosylátu **1**, získat z chloroformové fáze extrakcí. Následnou chromatografií na silikagelu se podařilo regenerovat 57 – 76 % příslušného dithiolu.

Za stejných podmínek byly připraveny i produkty **4d**, **4e**, **4f** a **4g** o délce spojky 2, 3, 5 resp. 8 methylenových jednotek ve výtěžcích 62 – 72 % (viz schéma 10).

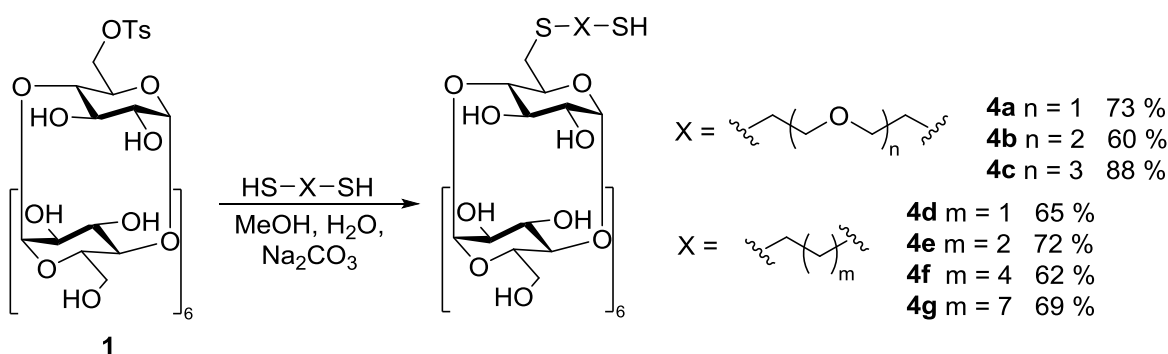
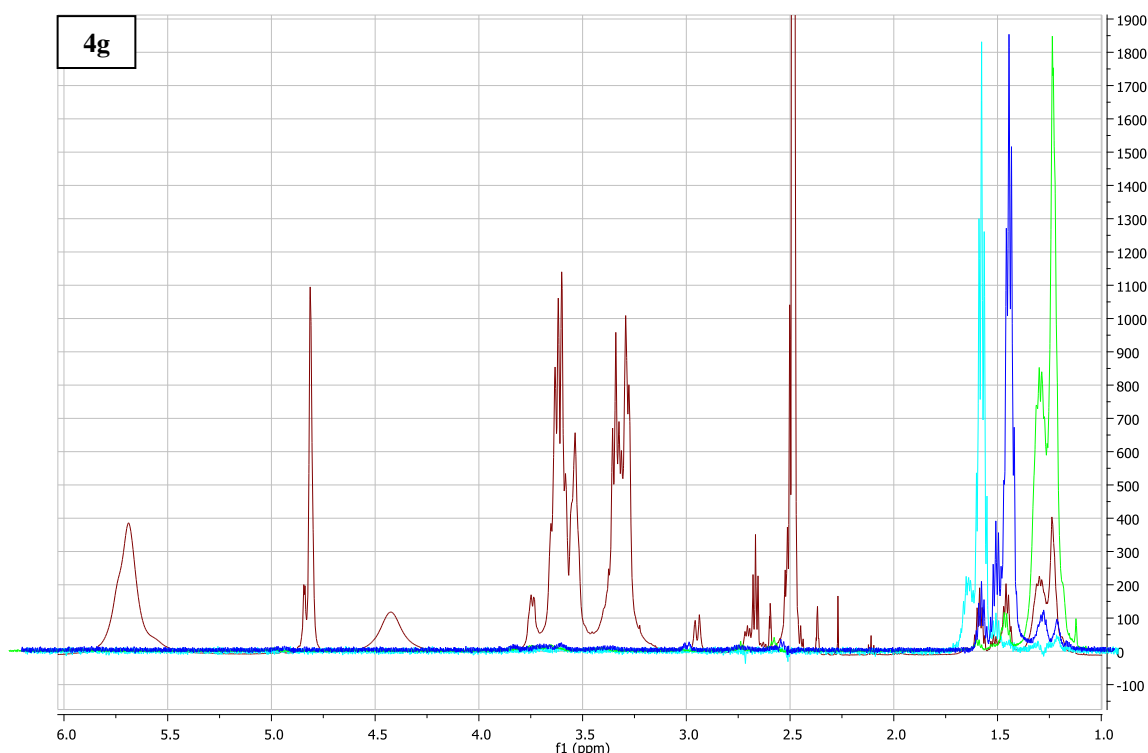


Schéma 10: Příprava β -CD-S-X-SH.

Domněnka, že nižší rozpustnost látek **4e**, **4f** a **4g** je způsobena především inkluzí alkanového řetězce do kavity CD, která byla ověřována NOESY NMR experimentem, se sice nepotvrdila (viz obr. 9), pro vázání na povrchy jsou ale přesto vhodnější látky dobře rozpustné ve vodných roztocích, a tak byly další série CD derivátů připravovány

s ethylenglykolových substituentem.



Obr. 9: Výsledky NOESY NMR experimentu sloučeniny **4g**.

Na obrázku 9 jsou znázorněna ^1H -NMR spektra z NOESY experimentu sloučeniny **4g** v překryvu. Tmavě červené linie patří klasicky změřenému vodíkovému spektru, zatímco spektra v odstínech modré a zelené jsou výsledkem selektivního pulsu do oblastí CH_2 skupin alkanového řetězce substituentu navázaném na CD skeletu sloučeniny **4g**. Jelikož ani jedna z methylenových skupin nevykazuje interakci s vodíky CD, nelze inkluzi řetězce do kavity prokázat.

4.4. 6^I-Amino-6^I-deoxy - β -CD

Protože byla tato látka již připravena jinými členy skupiny doc. Jindřicha, nebyla syntetizována v rámci této diplomové práce.

4.5. β -CD-N-X-NH₂

Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.2.3, příprava těchto látek ve většině případů spočívá v reakci 6-tosyl- β -CD (**1**) s příslušným diaminem. Dle výtěžků nejúspěšnější přípravy takovýchto derivátů jsou prováděny v DMF s přidavkem uhličitanu draselného³¹, 1-methylpyrrolidin-2-onu s jodidem draselným³⁶ nebo se jako rozpouštědlo používá samotný diamin³³.

Výběr nejvhodnějších podmínek byl proveden při přípravě 6¹-((2-aminoethan-1-yl)amino)-6¹-deoxy-β-CD (**8a**). Dle TLC bylo zjištěno, že při použití jakéhokoliv z výše uvedených způsobů po 24 hodinách není výchozí derivát CD **1** detekován a všechny reakce tvořily produkt o stejném *R_f*. Lze předpokládat, že nejsnazšího zamezení vzniku vedlejších produktů a zároveň i nejsnazší separace bude dosaženo v případě, kdy do reakční směsi nebudou přidávána žádná další rozpouštědla nebo aditiva. Byla proto vybrána metoda, kdy diamin plní roli reagentu a rozpouštědla zároveň.

Díky cenové dostupnosti byly ethan-1,2-diamin a 3,6-dioxaoktan-1,8-diamin, tedy derivát TEG, zakoupeny, diaminové deriváty DEG a TeEG bylo naproti tomu nutné připravit.

Jako vhodnou reakční sekvencí pro přípravu těchto spojek se zdála být nukleofilní substituce ditosylátů **5a** a **5c** za vzniku diazidu. Dalším krokem pak byla zvolena redukce azidové funkce na aminovou (viz schéma 11).

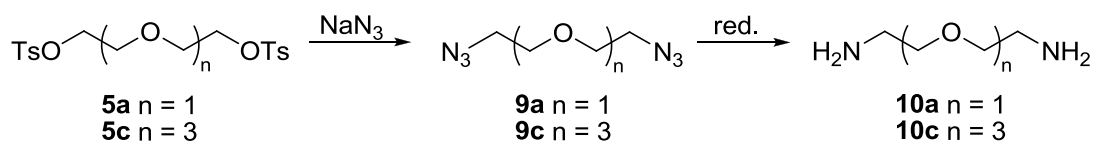


Schéma 11: Příprava diamino derivátů oligoethylen glykolů.

Diazidace byla prováděna upraveným postupem z literatury⁹⁸ reakcí ditosylátu **5a** a **5c** s azidem sodným v přítomnosti tetrabutylamonium jodidu (TBAI) v DMF za vzniku diazidů **9a** resp. **9c** ve výtěžku 86 % v obou případech.

První pokus o přípravu diaminů **10a** a **10c** z diazidů **9a** resp. **9c** byl proveden redukcí vodíkem adsorbovaným na palladiu na uhlí (Pd/C) v ethanolu¹⁰¹. Reakce byla prováděna 3 dny opakovaným probubláváním reakční směsi proudem vodíku (celkem patnáctkrát 3 minuty). V době, kdy reakční směs nebyla vystavena proudu plynu, byla držena ve vodíkové atmosféře bez tlaku. Poté, co výchozí diazid již na TLC nebyl detekován, byly katalyzátor s adsorbentem odstraněny opakovanou filtrací přes křemelinu a filtrační papír. Produkt reakce byl čištěn extrakcí do vody. Přestože produkty, s výjimkou zbytků vody v případě diaminu **10a**, které nebyly díky nízké teplotě varu produktu zcela odstraněny, se zdály být dle TLC i ¹H-NMR čisté a jejich výtěžky byly stanoveny na 52 resp. 62 %, jejich reakce s 6-tosyl-β-CD (**1**) neprobíhala dle očekávání. Namísto jediného produktu bylo na TLC detekováno látek hned několik a žádný z pokusů o separaci CD derivátů od zbytku reakční směsi nebyl úspěšný.

Diazidy **9a** a **9c** byly proto redukovány Staudingerovou reakcí¹⁰², tedy redukcí

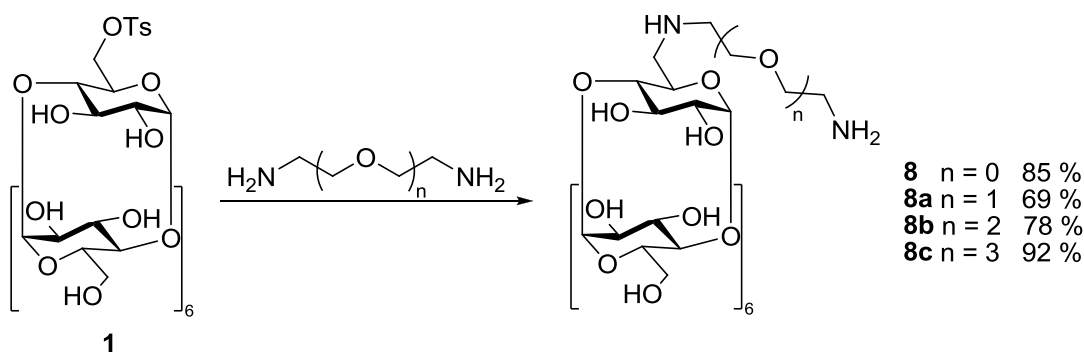
pomocí trifenylofosfinu a následnou hydrolýzou aminofosforanového intermediátu přidavkem vody. Produkty **10a** a **10c**, které byly čištěny extrakcí a chromatografií přes silný katex, byly získány v 80 a 82% výtěžku. Podmínky uvedených kroků reakce a jejich výtěžky shrnuje tabulka 4.

Tabulka 4: Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků přípravy diamino derivátů oligoethylenglykolů (derivát DEG – $n = 1$, TeEG – $n = 3$).

Reakční krok	Lit.	Činidla, aditiva	Rozpouštědlo	Teplota / °C	Výtěžek / %	
					$n = 1$ (Za)	$n = 3$ (Zc)
Diazidace (Z = 9)	98	NaN ₃ , TBAI	DMF	80	86	86
Redukce (Z = 10)	101	H ₂ , Pd/C	EtOH	l. t.	52	62
Redukce (Z = 10)	102	1. PPh ₃ 2. H ₂ O	THF	0 → l. t.	80	82

Jedinými problémy tohoto postupu je exotermicita redukce, díky které musí být trifenylofosfin k diazidu přidáván po částech a za stálého chlazení, a také nízký bod varu diaminu **10a**, na který musí být brán zřetel při odpařování zbytků vody po chromatografii.

Zakoupené i připravené diaminy byly tedy podrobeny reakci s CD derivátem **1**. Separace byla prováděna pouze opakovaným srážením – reakční směs byla naředěna vodou a nalita do acetonu, vzniklá sraženina byla oddělena centrifugací, rozpuštěna ve vodě a znovu nalita do acetonu. Tato metoda je sice ztrátová, ale časová úspora ve srovnání s chromatografií na silikagelu s reverzní fází, která je její alternativou, tuto nevýhodu předčí. Velká pozornost musí být upřena na stanovení poměru mezi vodou, v které je sraženina rozpuštěna, a acetonem, ve kterém je srážena. V případě příliš malého množství použitého acetonu (vzhledem k vodě) se z reakční směsi po jejím přenesení do tohoto rozpouštědla stane lepivá hmota, která ulpívá na laboratorním nádobí, oproti tomu při použití příliš velkého množství srážecího činidla se v něm produkt rozpouští. Optimální je použití 1 ml vody pro rozpuštění 100 mg vzorku a jeho vysrážení ve 100 ml acetonu, závisí ale i na struktuře produktu. Cyklodextrinové produkty **8**, **8a**, **8b** a **8c** byly touto metodou separace získány ve výtěžcích 69 – 92 % (viz schéma 12).

Schéma 12: Příprava β -CD-N-X-NH₂.

4.6. β -CD-S-X-NH₂ a β -CD-N-X-SH

První myšlenka způsobu přípravy těchto derivátů byla založena na předpokladu, že při reakci 6-tosyl- β -CD se spojkami zakončenými na jedné straně sulfanylovou a na druhé amino skupinou bude možné volbou pH reakčního prostředí měnit chemoselektivitu připojení substituentu. V bazickém prostředí by tak, díky vyšší nukleofilitě thiolátového aniontu, vznikaly deriváty CD se substituentem vázaným přes atom síry, zatímco v kyselém prostředí by byly vytvářeny deriváty s dusíkem připojeným na CD skelet. Přestože v literatuře není tento způsob řízení chemoselektivity popsán při přípravě derivátů CD ani jiných sacharidů, Gaulartovi et al.¹⁰³ se např. podařilo přes dusík vázat takovouto ambidentní spojku na substrát obsahující aromatické jádro s nitro skupinou. Pravděpodobně právě tato strukturní odlišnost je důvodem úspěchu této publikované syntézy, zatímco v našem případě se nepodařilo produkt se spojkou vázanou přes dusík tímto způsobem připravit.

Tato studie byla provedena na reakci 6-tosyl- β -CD (**1**) s cysteaminem. Pro výzkum v široké oblasti pH byl zvolen 50% vodný roztok methanol o pH = 1, 4, 7, 10 a 13. Těchto hodnot bylo dosaženo okyselením kyselinou octovou resp. alkalizací uhličitanem sodným. Pomocí TLC bylo zjištěno, že v bazickém pH reakce probíhá za vzniku jediného produktu a v neutrálním prostředí vzniká stejný produkt ovšem s nízkou konverzí. V roztocích s přídanou kyselinou reakce neposkytovala žádný produkt. Pro provedení studie s hodnotami pH v užším rozsahu – mezi hodnotami 6,0 a 8,0 s krokem po 0,5 byly použity fosfátové pufrы. I v tomto případě ale ani jeden z roztoků neposkytl jiný než již pozorovaný produkt vznikající zcela pouze v prostředí o pH = 8, v ostatních případech tento produkt vznikal také, s klesajícím pH ale s nižším výtěžkem.

Reakce v bazickém prostředí byla tedy provedena ve větším množství a produkt reakce byl izolován vysrážením v acetonu a chromatografií na silikagelu ve výtěžku 84 %.

O který ze dvou možných produktů jde, nemohlo být díky stejné relativní molekulové hmotnosti zjištěno pomocí MS. Rozřešení přinesly ale 2D NMR experimenty, které potvrdily navázání ambidentního substituentu přes atom síry za vzniku produktu **11**. (viz schéma 13).

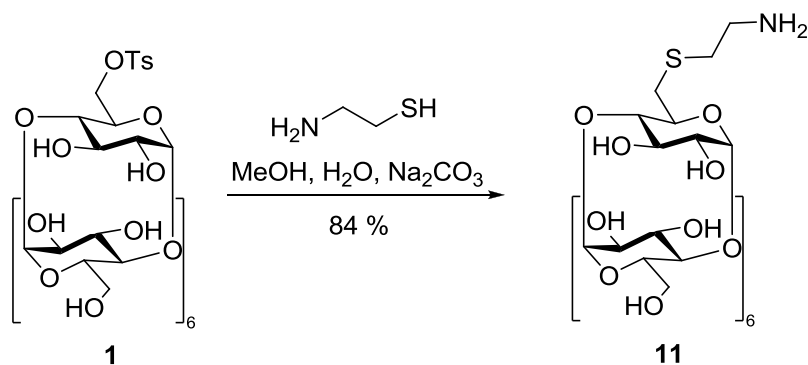
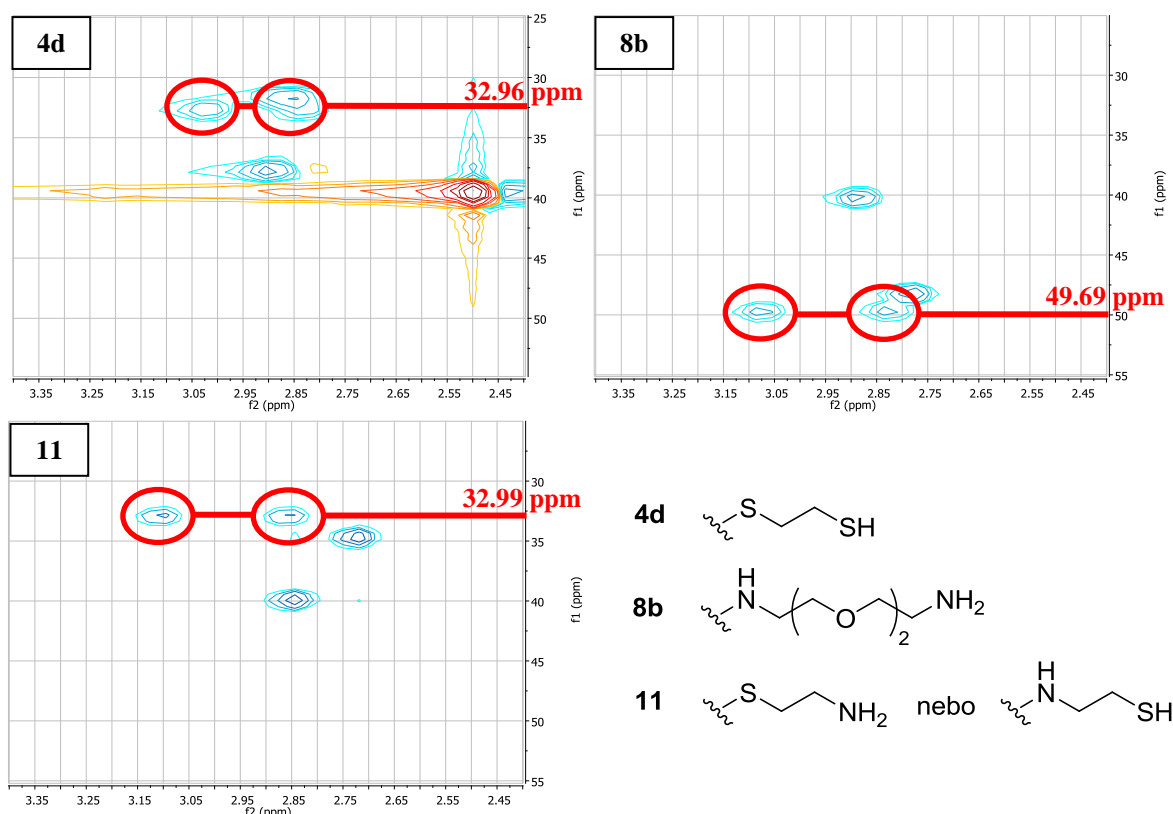


Schéma 13: Příprava β -CD-S-ethan-1,2-diyl-SH (**11**).

Nejnázornější demonstrace jednoduchosti zjištění, přes který atom je substituent vázán na CD skelet, je ukázána na obrázku 10, který zobrazuje výřezy 2D HSQC NMR spekter. První spektrum patří β -CD-S-X-SH, konkrétně sloučenině **4d**, druhé β -CD-N-X-NH₂ **8b** a poslední produktu β -CD-S-X-NH₂ **11**. **4d** i **11** vznikly připojením spojky o délce 2 methylenových jednotek, vhodnější by tedy bylo srovnání se spektrem sloučeniny **8**. Protože se ale jedná o látku, jejíž příprava je mnohokrát popsána v literatuře, pro její charakterizaci nebylo 2D HSQC NMR měřeno. Z výpisů NMR spekter v experimentální části této práce (kapitola 6.2) je ale jasné, že posuny významných píků látek **8** a **8b** se liší pouze minimálně. Na obrázku 10 je červenými ovály zvýrazněn krosník uhlíku C-6¹ s na něj přímo vázanými vodíky H-6¹. Právě tato CH₂ skupina je nejvíce ovlivněná atomem, přes který je substituent vázán na CD skelet. Posun jednotlivých H-6¹ vodíků je díky chiralitě a rigiditě molekuly rozdílný a jejich 2 píky, každý o integrální intenzitě 1, lze tedy ve spektru snadno identifikovat. Na tento vodíkový posun má ale připojený substituent pouze minimální vliv, a proto pouze z ¹H-NMR spektra nelze zjistit chemoselektivitu provedené reakce. Oproti tomu posun uhlíku C-6¹ je charakterem sousedního atomu velmi ovlivněn. Zatímco v derivátech β -CD-S-X-SH se pohybuje okolo 33 ppm, v derivátech β -CD-N-X-NH₂ je to okolo 50 ppm. Jak je vidět na obrázku 10, 2D HSQC NMR spektrum sloučeniny **11** tedy jednoznačně dokazuje, že cysteamin se na CD skelet navázal přes atom síry.



Obr. 10: Výřezy 2D HSQC NMR spekter látek 4d, 8b a 11 a struktury řetězců připojených na CD skelet.

Řetězce zakončené sulfanylovou a amino skupinou by byly tedy vhodné pouze pro syntézu derivátů typu CD-S-X-NH₂, zatímco pro přípravu CD-N-X-SH je třeba síru ochránit a po reakci s CD ji opět ochránit.

Mrksich et al.¹⁰⁴ v roce 2005 připravil derivát TEG zakončený na jedné straně ftalimidovou skupinou, zatímco na druhém konci byl thioacetát. Reakcí s hydrazinem pak vznikla spojka s NH₂ a SH skupinami. Tato látka by byla tedy vhodná pro přípravu CD-S-3,6-dioxaoktan-1,8-diyl-NH₂ derivátů, což na podobných řetězcích demonstroval Reetz et al.⁴⁷ a způsobem diskutovaným v kapitole 3.2.3 připravil sérii β-CD-S-X-NH₂. Odchránění amino skupiny ale v tomto případě proběhlo až po navázání ftalimidového derivátu na CD skelet pomocí hydrazinu, který překvapivě nezpůsobil žádné nežádoucí reakce.

K protekci thiolů v přítomnosti volné amino skupiny se často používají α,β-nenasycené sulfony¹⁰⁵. Jednodušší metodou je příprava spojek přes nereaktivní prekurzory funkčních skupin, z nichž v posledním kroku reakce může selektivně vznikat tato reaktivní funkční skupina, zatímco druhá zůstává v inertním stavu. Pokud by se tedy při použití analogů Mrksichem připravených spojek podařilo najít podmínky, ve kterých by se vazba mezi acylem a sírou neštěpila, zatímco ftalimidová skupina by poskytovala amino skupinu, bylo by reakcí s takovou spojkou možné připravit deriváty CD, jejichž

následnou hydrolýzou vazby S-Ac by vznikaly CD-N-X-SH.

Metoda přípravy byla optimalizována na TeEG derivátech. Přestože v Mrksichově článku¹⁰⁴, který byl podkladem pro následující reakce, příprava vycházela z dibromo derivátů, my jsme pro první krok monoftalimidace vybrali ditosylát **5c**. Bohužel výchozí látka i produkt reakce mají ve všech běžně používaných mobilních fázích pro chromatografie na silikagelu stejné R_f , a proto bylo skutečně nutné připravit dibromid. Reakční sekvence přípravy popsaného derivátu oligoethylenglykolu zakončeného ftalimidovou a thioacetátovou skupinou je znázorněna ve schématu 14.

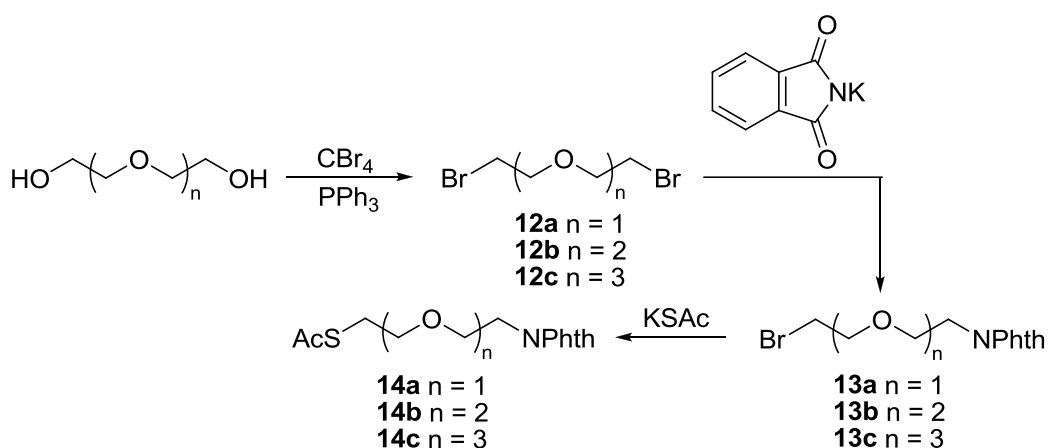


Schéma 14: Příprava oligoethylenglykolového derivátu zakončeného ftalimidovou a thioacetátovou skupinou.

Dibromace byla provedena Appelovou reakcí TeEG, tedy reakcí s tetrabrommethanem za přítomnosti trifenylyfosfinu, v tetrahydrofuranu ve výtěžku 89 %. Z důvodu exotermní povahy reakce bylo nutné tetrabrommethan přidávat po částech. Produkt byl od nečistot oddělen opakovaným srážením a sloupcovou chromatografií na silikagelu. Druhý krok, monoftalimidace, byl proveden reakcí dibromidu **12c** s ftalimidem draselným ve směsi THF a DMF. Produkt **13c** byl po extrakci a chromatografií na silikagelu získán v očekávaném výtěžku blízkém 50 %.

Zavedení atomu síry na druhý konec řetězce bylo provedeno thioacetylací. Ta probíhala reakcí derivátu TeEG **13c** s thioacetátem draselným v acetonitrilu. Extrakcí a chromatografií na silikagelu byl získán produkt **14c** v téměř kvantitativním výtěžku.

Pro přípravu ambidentní spojky byly zvoleny stejné podmínky jaké použil Mrksich¹⁰⁴, tedy reakce produktu **14c** s hydrazinem v methanolu. Rozpouštědlo bylo předem vystaveno ultrazvuku a probubláváno argonem pro odstranění veškerého kyslíku, který by způsobil oxidaci vznikajícího thiolu na disulfid. Samotnou reakcí vznikala směs produktů, která byla po neutralizaci a odfiltrování nerozpustných částic extrahována.

Vodná fáze byla následně dvakrát chromatografována na silikagelu a poskytla ambidentní spojku **15** ve výtěžku 53 % (viz schéma 15).

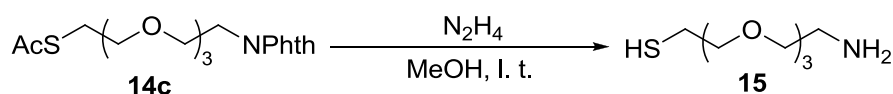


Schéma 15: Příprava ambidentní spojky **15**

Díky úspěšné přípravě látky **15**, byly zahájeny i přípravy těchto derivátů odvozených od DEG a TEG použitím stejných metod. Jejich výtěžky shrnuje tabulka 5.

Tabulka 5: Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků přípravy derivátů oligoethylenglykolů zakončených ftalimidovou a thioacetátovou skupinou (derivát DEG – $n = 1$, TEG – $n = 2$, TeEG – $n = 3$).

Reakční krok	Lit.	Činidla, aditiva	Rozpouštědla	Teplota / °C	Výtěžek / %		
					$n = 1$ (Za)	$n = 2$ (Zb)	$n = 3$ (Zc)
Dibromace (Z = 12)	104	CB ₄ , PPh ₃	THF	l. t.	71	64	89
Ftalimidace (Z = 13)	104	PhthNK	THF, DMF	90	59	47	48
Thioacetylace (Z = 14)	104	KSAC	ACN	90	98	97	96

Když ale byla spojka **15** zakončená amino a sulfanylovou skupinou na opačných koncích vystavena reakci s 6-tosyl-β-CD, namísto předpokládaného β-CD-S-X-NH₂ derivátu poskytla téměř kvantitativně 3,6-anhydro-β-CD. Ani další pokusy nevedly k jinému produktu. Vznik tohoto typického nežádoucího produktu reakce 6-tosyl-β-CD v bazických podmínkách si vysvětlujeme přítomností zbytkového množství hydrazinu z posledního kroku přípravy spojky **15**.

Jelikož se tento problém nepodařilo vyřešit, pokusili jsme se připravit ambidentní spojku **15** z látky **14c** jinou metodou, konkrétně hydrolýzou pomocí kyseliny chlorovodíkové ve směsi methanolu a vody. I přes dlouhodobé zahřívání této směsi se nepodařilo ochránit NH₂ skupinu, zatímco k deacetylaci docházelo téměř okamžitě za vzniku sloučeniny **16** ve výtěžku 42 %. Druhým pokusem byla bazická hydrolýza v roztoku hydroxidu sodného. I tato reakce ovšem poskytla produkt **16**, tentokrát ve výtěžku 22 %, majoritním produktem byl ale disulfid **17** vznikající oxidací thiolu **16**. V obou případech byly roztoky zbaveny nežádoucího kyslíku. Struktury diskutovaných produktů i podmínky jednotlivých metod jsou znázorněny ve schématu 16.

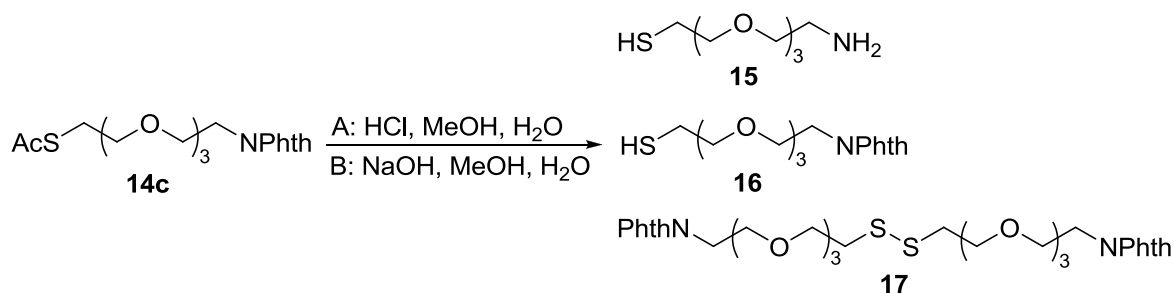


Schéma 16: Pokusy o ochránění sulfanylové a amino skupiny sloučeniny 14c.

Poslední 3 popsané reakce byly provedeny pouze v miligramových množstvích, a přestože jejich produkty jsou unikátními látkami v rámci této práce, z důvodu nemožnosti využití produktů k přípravě kýžených derivátů CD (viz dále) nebyly jejich metody přípravy optimalizovány, a tak nejsou uvedeny v experimentální části (kapitola 6.2).

Přestože dle Reetze et al.⁴⁷ lze látky typu sloučeniny 16 použít k přípravě CD-S-X-NH₂, pro přípravu CD-N-X-SH derivátů by bylo nutné použít spojky s jinou chránící skupinou NH₂ skupiny. Rozhodli jsme se tedy připravit spojky zakončené azidovou a thioacetátovou skupinou.

Inspirací pro použitý plán reakční sekvence byl článek Roye et al.¹⁰⁶ a je naznačen ve schématu 17.

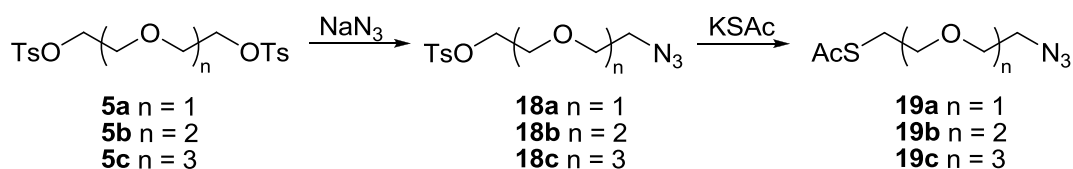


Schéma 17: Příprava derivátů oligoethylenglykolů zakončených azidovou a thioacetátovou skupinou.

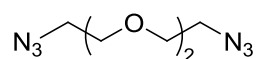
Optimalizace podmínek byla prováděna na derivátu TEG. Syntéza vycházela z výhodného ditosylátu 5b a prvním krokem byla nukleofilní substituce jedné tosylátové skupiny za azidovou. Reakce probíhala v ethanolu pomocí azidu sodného. Optimalizace množství přidaného azidu je naznačena v tabulce 6.

Tabulka 6: Optimalizace přídavku NaN₃ pro vznik monoazidu TEG 18b.

Množství NaN ₃ / ekv. vůči 5b	Výtěžek / %		
	ditosylát 5b	azid 18b	diazid 9b
0,5	50	24	-
0,75	19	34	14
1,1	16	45	21
1,5	12	40	36

Reakce byla prováděna 3 hodiny v ethanolu při 80 °C (lit. 106).

Separace výchozí látky a produktů byla prováděna extrakcí a sloupcovou chromatografií na silikagelu. Monoazidovaný produkt **18b** byl s nejvyšším výtěžkem 45 % připraven při přidavku 1,1 ekvivalentu azidu sodného, zároveň bylo získáno 21 % diazidu **9b**, jehož struktura je naznačena na obrázku 11, a 16 % výchozího ditosylátu **5b**. Výhodou je možnost využití i vedlejšího produktu – diazidu, který je jedním z meziproduktů při přípravě CD derivátu β -CD-N-X-NH₂.

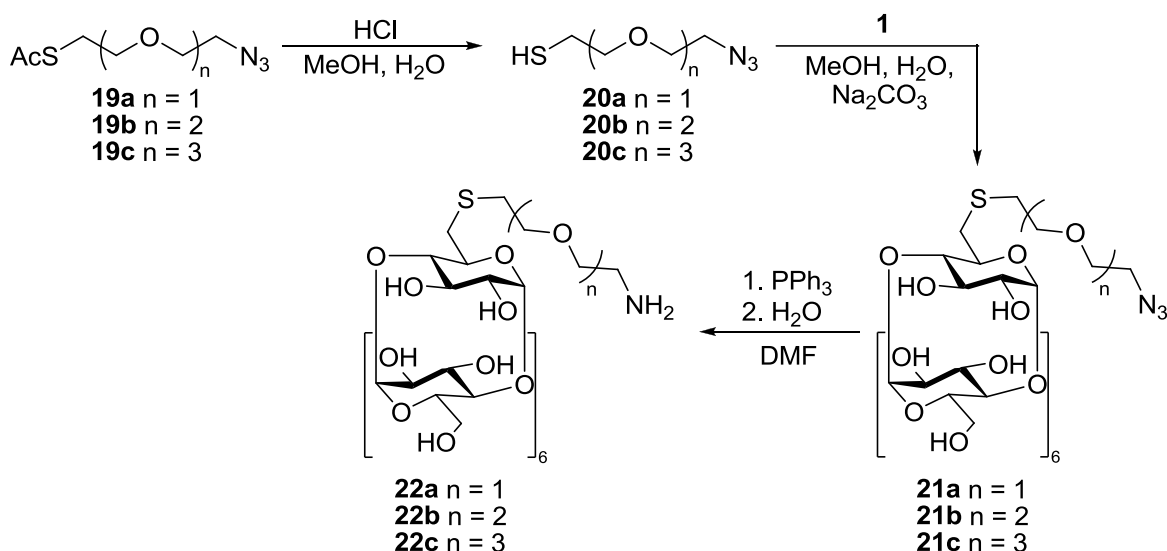


Obr. 11: Struktura diazidu TEG **9b**.

Druhým krokem reakce byla thioacetylace **18b** pomocí thioacetátu draselného v ethanolu. Produkt **19b** byl získán po extrakci a chromatografii na silikagelu v 88% výtěžku.

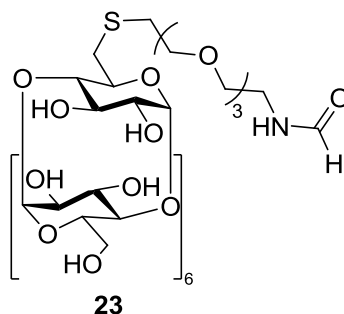
Publikace¹⁰⁷ popisující deacetylaci thioacetátové skupiny v přítomnosti azidu nás přivedly na myšlenku nejprve selektivně ochránit sulfanylovou skupinu a až po připojení této spojky na CD skelet redukovat azidovou skupinu na NH₂. Uvědomili jsme si totiž možnost obtížné izolace ambidentní spojky z reakční směsi. Přítomnost sulfanylové a amino skupiny totiž téměř ve všech prostředích způsobuje nabitost dané sloučeniny, což je příčinou nesnadnosti až nemožnosti jejího vyeluvování při chromatografii na silikagelu.

Sloučenina **19b** byla tedy po vzoru přípravy dithiolů **7a** – **7c** zahřívána v methanolu, vodě a kyselině chlorovodíkové. Směs rozpouštědel a kyseliny byla i zde předem zbavena zbytků kyslíku. Tímto způsobem se skutečně podařilo připravit kýžený thiol **20b** ve výborném výtěžku 92 %. Produkt byl ihned podroben reakci s 6-tosyl- β -CD (**1**) za stejných reakčních podmínek jako při přípravě β -CD-S-X-SH (inertní prostředí zbavené kyslíku). Po extrakci a chromatografii byl produkt **21b** získán v 76% výtěžku. Posledním krokem přípravy β -CD-S-X-NH₂ byla redukce koncové azidové skupiny na amin. Po vzoru přípravy¹⁰⁸ 6^I-amino-6^I-deoxy- β -CD byla jako vhodná metoda vybrána již používaná Staudingerova redukce v DMF. I přes nutnost přidavku vyššího množství trifenylofosfinu než je uvedeno v této publikaci byla dle TLC výchozí látka beze zbytku spotřebována. Po extrakci a vysrážení acetonem nebylo překvapivě možné produkt zachytit na silném katexu v H⁺ cyklu, a tak bylo nutné produkt čistit sloupcovou chromatografií na silikagelu. Uvedeným postupem byl získán čistý produkt **22b** ve výtěžku 57 %. Popsaná příprava derivátů typu β -CD-S-X-NH₂ je uvedena ve schématu 18.

Schéma 18: Příprava β -CD-S-X-NH₂.

Popsaný postup přípravy spojek zakončených sulfanylovou a azidovou skupinou byl aplikován i pro přípravu derivátů DEG **20a** a TeEG **20c** a i pro připojení substituentů na CD skelet. CD deriváty **21a** a **21c** zakončené azidovou funkční skupinou vznikaly dokonce ve výborných výtěžcích 87 resp. 89 %.

Při redukci azidové skupiny sloučeniny **21c** se ale vyskytly problémy, díky nimž byla na TLC chybně označena jedna skvrna za produkt **22c**. Tato špatně identifikovaná látka v reakci přibývala, ale velmi pomalu, a to i po přidavku vody. Tento majoritní produkt reakce byl izolován stejným způsobem, jako je popsáno při přípravě látky **22b**. Díky výsledkům získaným z měření hmotnostního spektra bylo ale zjištěno, že se nejedná o amin **22c**, ale o formamid **23** (viz obr. 12) vznikající pravděpodobně reakcí produktu **22c** s přítomným *N,N*-dimethylformamidem. Tento nežádoucí produkt byl proto hydrolyzován v amoniakálním prostředí za vzniku kýženého derivátu **22c**. Bohužel tyto komplikace měly za následek nízký výtěžek popsané reakce. Je však zajímavým zjištěním, které by stálo za hlubší zkoumání, že *N,N*-dimethylformamid dokáže formylovat přítomný amin i ve vodném prostředí.



Obr. 12: Struktura formamidu 23.

Uvedená chyba však nebyla způsobena jen lidským selháním, ale i nekvalitním trifenylfosfinem, který byl v dané reakci použit. Po zakoupení nového balení byla totiž provedena redukce sloučeniny **21a**, která poskytovala produkt **22a** bez jiných vedlejších produktů ve vysokém výtěžku 76 %. Je tedy plánováno syntézu v nejbližší době zopakovat a stanovit její skutečný výtěžek.

Výtěžky a podmínky všech reakcí mnohakrokové reakční sekvence začínající ditosyláty **1**, **5a** – **5c** a končící deriváty β -CD-S-X-NH₂ **22a** – **22c** jsou shrnuty v tabulce 7.

Tabulka 7: Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků přípravy β -CD-S-X-NH₂ (derivát DEG – $n = 1$, TEG – $n = 2$, TeEG – $n = 3$).

Reakční krok	Lit.	Činidla, aditiva	Rozpouštědla	Teplota / °C	Výtěžek / %		
					$n = 1$ (Za)	$n = 2$ (Zb)	$n = 3$ (Zc)
Azidace (Z = 18)	106	NaN ₃ (1,1 ekv.)	EtOH	80	42	45	40
Thioacetylace (Z = 19)	107	KSac	EtOH	70	94	88	85
Deacetylace (Z = 20)	107	HCl ^a	MeOH, H ₂ O ^a	120	86	92	88
Připojení na CD (Z = 21)	-	Na ₂ CO ₃	MeOH, H ₂ O ^a	60	87	76	89
Redukce (Z = 22)	108	1. PPh ₃ 2. H ₂ O	DMF	l. t. → 90	76	57	29

^a roztok byl zbaven veškerého rozpuštěného kyslíku.

Poslední série CD derivátů CD-N-X-SH se již od začátku zdála nejobtížněji dosažitelná. Výše diskutované prekurzory **19a** – **19c** byly zakončené azidovou a thioacetátovou skupinou, první pokus o přípravu vhodných spojek tedy spočíval v selektivním ochránění amino skupiny, zatímco chránění sulfanylové skupiny (thioacetát) zůstane zachováno. Nejsnazším řešením se zdála být již několikrát použitá Staudingerova redukce. Trifenylfosfin byl k ochlazené výchozí látce **19b** v THF přidáván po částech, po hydrolyze intermediátu reakce byl produkt vyizolován ve výtěžku 89 %. Při charakterizaci vzniklé látky bylo ale zjištěno, že produktem není thioacetát **24**, ale

acetamid **25** (viz schéma 19).

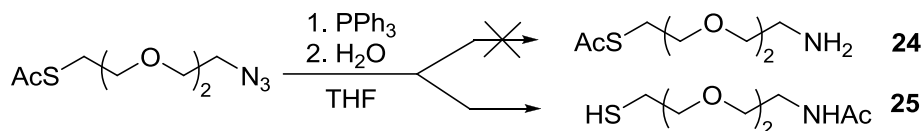


Schéma 19: Neúspěšný pokus o ochránění amino skupiny sloučeniny **19b**.

Došlo tedy k zredukování azidové vazby, za podmínek reakce ale acetyl přemigroval z atomu síry na atom dusíku. Nebylo tedy dosaženo ochránění atomu dusíku, a navíc nukleofilnější síra byla bez chránicí skupiny.

Bylo tedy nutné opět modifikovat reakční plán. Ideální variantou se zdála být možnost ochránění sulfanylové skupiny její oxidací na disulfid, tedy využít reakci, která nás při ostatních syntézách omezovala a ztěžovala nasazování reakcí. Redukcí disulfidické vazby po navázání na CD skelet by tak vznikaly kýžené produkty typu CD-N-X-SH.

Jako první byl připraven cystamin **26**, tedy oxidační produkt cysteaminu. Jelikož jsme u jiných thiolů pozorovali velkou tendenci oxidovat se i běžně na vzduchu, zvolili jsme celkem netradiční metodu oxidace – roztok cysteaminu ve směsi methanolu a amoniaku byl probubláván vzduchem pomocí akvarijního kompresoru. Přestože byla tato metoda zdoluhavější než běžnější druhy oxidace thiolů (např. oxidace jodem), separace je výrazně snazší – spočívá v pouhém odpaření rozpouštědla po předcházející filtraci. Cystamin **26** byl z reakční směsi izolován ve výtěžku 82 % (viz schéma 20).

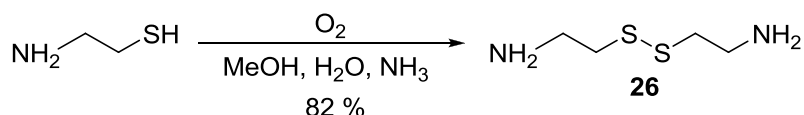


Schéma 20: Oxidace cysteaminu na cystamin (**26**).

Deriváty DEG, TEG a TeEG byly připraveny z thiolů **20a** – **20c** nejprve oxidací provedenou stejným způsobem jako v případě cysteaminu. Disulfidy **27b** a **27c** vznikaly ve výborných výtěžcích 91 a 94 %. Bohužel v případě disulfidického derivátu DEG **27a** nebyla správně odhadnuta těkavost výchozí látky a tak výtěžek reakce byl z důvodu dlouhého probublávání směsi pouhých 36 %. V tomto případě by bylo vhodné použít jinou metodu provedení oxidace.

Druhým krokem byla redukce dvou koncových azidových skupin disulfidů **27a** – **27c**. I v tomto případě výborně posloužila Staudingerova reakce, která poskytla diaminy **28a** – **28c** v téměř kvantitativních výtěžcích. Separace spočívala v extrakci a chromatografii přes silný katex. Příprava těchto diaminů z thiolů **20a** – **20c** je znázorněna

ve schématu 21. Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků pak shrnuje tabulka 8.

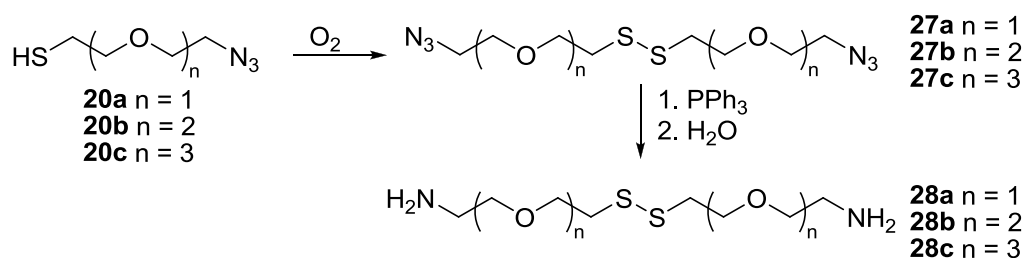


Schéma 21: Příprava diaminů 28a – 28c.

Tabulka 8: Podmínky a výtěžky jednotlivých kroků přípravy diaminů 28a – 28c (derivát DEG – $n = 1$, TEG – $n = 2$, TeEG – $n = 3$).

Reakční krok	Lit.	Činidla, aditiva	Rozpouštědla	Teplota / °C	Výtěžek / %		
					$n = 1$ (Za)	$n = 2$ (Zb)	$n = 3$ (Zc)
Oxidace (Z = 27)	-	O ₂	MeOH, H ₂ O, NH ₃	l. t.	36	91	94
Redukce (Z = 28)	102	PPh ₃ → H ₂ O	THF	70	98	94	97

Připravené diaminy **26**, **28a – 28c** bylo v dalším kroku nutné navázat na CD skelet, inspirací byla metoda diskutovaná v kapitole 3.2.3. Zamýšlená příprava β -CD-N-ethan-1,2-diyl-SH je znázorněna ve schématu 22.

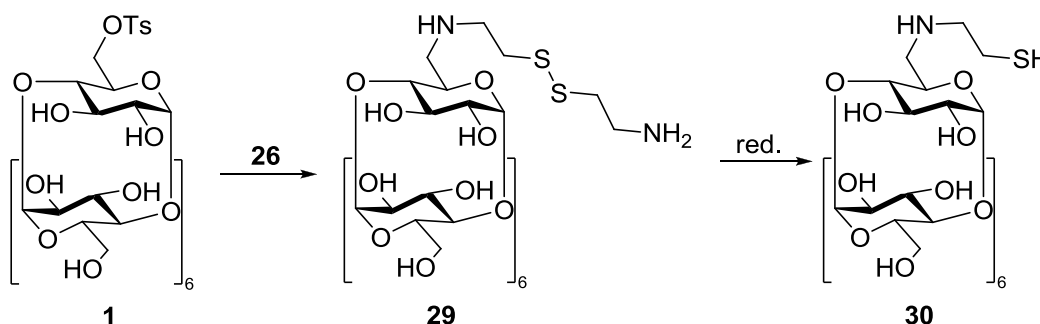
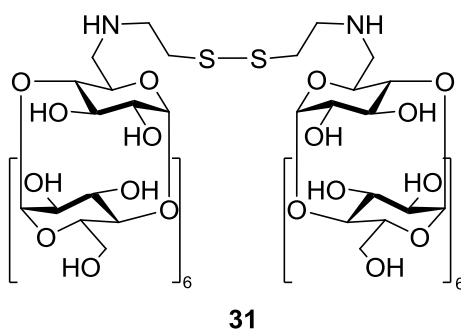


Schéma 22: Příprava β -CD-N-ethan-1,2-diyl-SH (**30**).

Nejprve pro reakci 6-tosyl- β -CD (**1**) s cystaminem **26** byla provedena optimalizace podmínek ve smyslu použitého rozpouštědla. Pokud byla reakce s 6-tosyl- β -CD prováděna bez přidavku jiného rozpouštědla, poskytovala dle TLC stejný produkt jako když byla provedena v DMF s přidavkem K₂CO₃. Pro snížení spotřeby diaminů **28a – 28c** připravovaných mnohakrokovou syntézou byla tedy zvolena jako vhodná metoda zahřívání v DMF. Při provedení reakce ve větším množství se dle TLC zdálo, že vzniká jediný produkt, po izolaci ale bylo z hmotnostního spektra (ESI v pozitivním módu) jasné, že se jedná o 2 produkty – jedním byl kýžený produkt **29**, druhým neznámá látka s píkem ve spektru o hodnotě 1335,5 Da. Tyto 2 produkty se nepodařilo rozdělit, a tak byly společně

podrobeny redukcí.

Prvním použitým činidlem byl tetrahydridoboritan sodný (NaBH_4), jehož redukcí směsi neznámé látky a sloučeniny **29** byl na TLC detekován jediný produkt, který ale vznikal v nízkém výtěžku. Více tohoto produktu poskytovala redukce pomocí ethanthiolu, který byl v reakci zároveň rozpouštědlem. Po dokonalém oddělení této látky extrakcí, srážením v ethanolu a dvěma chromatografiemi na silikagelu byla opět z hmotnostního spektra zjištěna přítomnost dvou látek. Majoritním produktem dané reakce navíc nebyla žádaná látka **30**, ale produkt její oxidace na disulfid **31** (viz obr. 13).



Obr. 13: Struktura disulfidu **31**.

Stejně neuspokojivých výsledků bylo dosaženo i při reakcích 6-tosyl- β -CD (**1**) s diaminy **28a** – **28c**.

Touto metodou se tedy zatím nepodařilo připravit kýžené β -CD-N-X-SH deriváty, které sice během reakce pravděpodobně vznikají, ale za podmínek reakce se oxidují na disulfidy. Další optimalizací reakčních podmínek nebo podmínek izolace by ale mohla být tato cesta úspěšná.

5. Závěr

V rámci této diplomové práce se podařilo připravit deriváty CD se dvěma typy substituentů zakončenými sulfanylovou skupinou a vázanými na CD skelet přes atom síry. První typ obsahuje řetězec alkanový, druhý oligoethylenglykolový. Optimalizací podmínek reakce i separace bylo dosaženo výtěžků 60 – 88 %, které několikanásobně převyšují hodnoty v dosud publikovaných člancích pro přípravu tohoto typu derivátů. Disulfanylové deriváty oligoethylenglykolů použité pro syntézu těchto sloučenin byly připraveny tříkrokovou syntézou z levných výchozích látek s velmi dobrými výtěžky.

CD deriváty s oligoethylenglykolovými substituenty vázanými na skelet CD přes atom dusíku zakončené NH_2 skupinou byly připraveny s výbornými výtěžky 69 – 92 %. Jejich separace byla navíc provedena jednoduchým, časově i ekonomicky nenáročným způsobem. Diaminové spojky odvozené od di- a tetraethylenglykolu byly připraveny tříkrokovou reakční sekvencí s vysokými výtěžky.

Pro přípravu derivátů CD se sírou vázanou na CD skelet a substituenty zakončenými amino skupinou byly použity dvě metody. Pro přípravu derivátu se substituentem délky dvou methylenových jednotek byla použita jednoduchá reakce s cysteaminem v 84% výtěžku. Pomocí 2D NMR metod bylo jednoduše demonstrováno ověření vazby spojky na CD přes atom síry. Příprava derivátů CD se substituenty odvozenými od di-, tri- a tetraethylenglykolů byla provedena jinou metodou, pro niž byly připraveny dva typy spojek lišící se prekurzorem amino skupiny. Řetězce opatřené ftalimidovou a thioacetátovou skupinou byly připraveny tříkrokovou reakční cestou v dobrých výtěžcích, z diskutovaných důvodů nebyly ale pro derivatizaci CD použity. Spojky zakončené azidovou a thioacetátovou skupinou byly syntetizovány pomocí stejného počtu reakčních kroků také s dobrými výtěžky. Následná deacetylace a navázání na CD skelet přes atom síry poskytovalo azidovou skupinou zakončené CD deriváty ve výborných výtěžcích. Redukce azidu na amin byla ideálním způsobem provedena pouze u CD se substituentem odvozeným od diethylenglykolu s výtěžkem 76 %.

Nejkomplikovanější částí se ukázala být příprava derivátů CD s oligoethylenglykolovými řetězci vázanými na CD skelet přes atom dusíku a s volnou SH skupinou na konci substituentu. Přestože byla použita metoda chránění nukleofilní síry před navázáním na CD skelet, zatím se nepodařilo připravit kýžené produkty v čisté formě. Ukázalo se, že použitá sedmikroková syntéza koncové sloučeniny skutečně poskytuje, ty se ale pravděpodobně za použitých podmínek separace přeměňují na nežádoucí oxidační

produkty. Budoucí optimalizací se tyto problémy jistě podaří odstranit.

Všechny dosud nepublikované deriváty CD se podařilo jednoznačně identifikovat pomocí 2D NMR experimentů.

V nejbližší době budou na spolupracujícím pracovišti Katedry anorganické chemie Univerzity Karlovy v Praze měřeny společně s inkluzními schopnostmi připravených látek také možnosti jejich imobilizace na vybrané pevné povrchy (zlato a dopaminový polymer).

6. Experimentální část

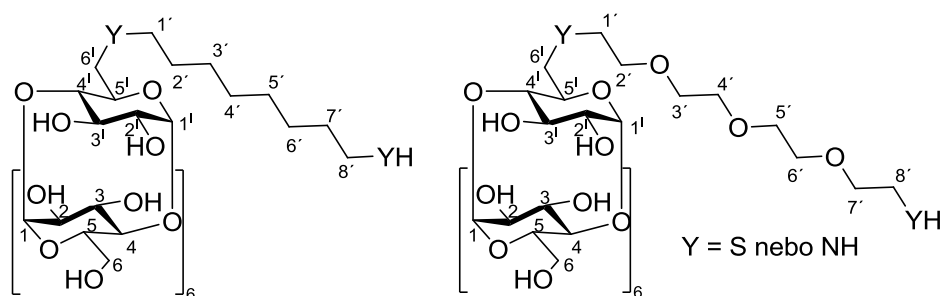
6.1. Použité přístroje a chemikálie

Běžné chemikálie a rozpouštědla používaná pro reakce byla zakoupena od firmy PENTA, speciální chemikálie a rozpouštědla pak od firmy Aldrich. β -cyklodextrin byl pořízen od firmy WAKO Chemicals. Rozpouštědla byla před použitím predestilována, DMF pro reakce CD a THF pro Staudingerovy reakce byly sušeny pomocí 3Å molekulových sít, butanol byl zakoupen v p. a. čistotě a destilován nebyl. Pro práci v inertní atmosféře byl používán argon.

Pro mikrovlnnou iniciaci byl použit přístroj Biotage Initiator Classic. Odstřeďování bylo prováděno pomocí centrifugy Hettich EBA20 při 6000 RPM. Probublávání vzduchem pro oxidace bylo prováděno pomocí akvarijního kompresoru s tlakem 1,1 atm.

Sloupcová chromatografie byla prováděna na Silikagelu 60 (0,040–0,063 mm), na reverzním silikagelu LiChroprep RP-18 nebo na silném katexu Amberlite® IR120. TLC bylo prováděno na aluminiových destičkách s vrstvou Silikagelu 60 F₂₅₄ nebo s reverzním Silikagelem 60 RP-18 F₂₅₄S, vše dodala firma Merck. Detekce TLC byla prováděna pomocí UV lampy ($\lambda = 254$ nm), bazického roztoku manganistanu draselného (0,5 g KMnO₄, 0,4 g NaOH, 100 ml H₂O), roztoku ninhydrinu s kyselinou octovou (0,3 g ninhydrinu, 3 ml HOAc, 100 ml EtOH) nebo karbonizací – zahřátím horkovzdušnou pistolí po ponoření do 50% H₂SO₄. Konkrétní způsob detekce je vždy uveden v pracovním postupu dané reakce.

NMR spektra byla měřena na spektrometru Varian VNMRS 300 ($\nu(^1\text{H}) = 299,94$ MHz, $\nu(^{13}\text{C}) = 75,43$ MHz) a Bruker AVANCE III 600 ($\nu(^1\text{H}) = 600,17$ MHz, $\nu(^{13}\text{C}) = 150,04$ MHz). NMR spektra derivátů neobsahujících CD a již několikrát připraveného 6-tosyl- β -CD byla měřena na přístroji Varian. ^1H a ^{13}C spektra publikovaných derivátů CD byla měřena na spektrometru Bruker. NMR charakterizace nově připravených derivátů CD byla provedena pomocí ^1H , ^{13}C , APT a 2D NMR experimentů COSY, HSQC a HMBC měřených také na spektrometru Bruker, pomocí kterého byla měřena i 1D NOESY spektra. Dlouhá doba měření NMR experimentů způsobila oxidaci některých derivátů CD s koncovou SH skupinou, tyto deriváty proto byly charakterizovány ve formě disulfidů a touto změnou ovlivněné posuny NMR signálů jsou ve výpisech označeny „*“. Příslušné atomy CD byly číslovány tak, jak znázorňuje obrázek 14. Chemické posuny (δ) jsou uvedeny v hodnotách ppm a interakční konstanty (J) v Hz. Pro přehlednost jsou ve výpisech použity tečky místo desetinných čárek.



Obr. 14: Číslování atomů použité ve výpisech NMR spekter CD derivátů.

Hmotnostní spektra byla měřena na spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 ES-ion trap. Ionizace byla po rozpuštění vzorků v methanolu prováděna elektrosprejem. Toto měření bylo provedeno u dosud nepublikovaných necyklodextrinových meziproduktů a všech sloučenin obsahujících CD skelet. Jedinou výjimkou jsou ethylenglykolové deriváty s alespoň jednou sulfanylovou skupinou, jejichž MS spektra nebyla interpretovatelná z důvodu jejich oxidace na disulfidy. Jejich výpisy MS spekter tedy nejsou uvedeny.

Všechny CD deriváty byly před charakterizací sušeny ve vakuu (10 Pa) při 85 °C minimálně 6 hodin.

V následující kapitole jsou popsány pouze metody poskytující daný produkt v nejvyšším výtěžku.

6.2. Pracovní postupy

***p*-Toluensulfonylanhydrid (2)**

Sloučenina **2** byla připravena upraveným postupem podle literatury⁹³. Monohydrát *p*-toluensulfonové kyseliny (1,076 g, 5,54 mmol) a *p*-toluensulfonylchlorid (4,136 g, 21,69 mmol) byly suspendovány v DCM (30 ml). Směs byla míchána 18 hodin při l. t. Následně byly nerozpustné zbytky reakční směsi odfiltrovány přes silikagel (20 g) a promyty DCM. Ve filtrátu se po zahuštění na RVO na 3 ml a ochlazení v lednici (4 °C) po 24 hodinách vytvořily krychlové krystaly produktu. Krystaly byly po oddělení od matečního louhu filtrací přes S3 fritu sušeny na RVO. Takto bylo připraveno 1,800 g sloučeniny **2** ve formě bezbarvých krystalů ve výtěžku 99 %. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.83 (d, *J* = 8.5 Hz, 4 H, 4 × CH), 7.32 (d, *J* = 8.6 Hz, 4 H, 4 × CH), 2.40 (s, 6 H, 2 × CH₃) ppm, ve shodě s literaturou⁹³.

6^I-*O*-*p*-Toluensulfonyl- β -CD (1)

Sloučenina **1** byla připravena upraveným postupem podle literatury⁹³. Hydrát β -CD (4,141 g, 3,28 mmol) a *p*-toluensulfonylanhydrid (1,773 g, 5,33 mmol) byly suspendovány ve vodě (100 ml). Suspenze byla 2 hodiny míchána při l. t. a poté zalkalizována přidavkem NaOH (1,8 g) rozpuštěném ve vodě (5 ml). Po 10 minutách míchání při l. t. byl pomocí S3 frity odfiltrován nerozpuštěný *p*-toluensulfonylanhydrid. Filtrát byl okyselen přidavkem NH₄Cl (4,8 g) a poté 15% HCl (8 ml) do pH 3. Směs byla chlazená v lednici (4 °C) po dobu 15 hod. Vytvořené krystaly byly zfiltrány přes S3 fritu a promyty studenou vodou (4 °C). Produkt byl přečištěn rekrystalizací ze směsi MeOH:H₂O (1:1). Tímto postupem bylo získáno 1,027 g sloučeniny **1** ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 24 %. TLC – *n*-PrOH:H₂O:EtOAc:konc. roztok NH₃ = 6:3:1:1, *R_f* = 0,34, detekce H₂SO₄. ¹H NMR (300 MHz, d₆-DMSO): δ = 7.75 (d, *J* = 8.2 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.43 (d, *J* = 8.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 5.87–5.58 (m, 14 H, 7 × OH-2, 7 × OH-3), 4.89–4.74 (m, 7 H, 7 × H-1), 4.58–4.29 (m, 6 H, 6 × OH-6), 3.73–3.16 (m, 7 × H-2, 7 × H-3, 7 × H-4, 7 × H-5, 14 × H-6 + H₂O), 2.43 (s, 3 H, CH₃) ppm, ve shodě s literaturou⁹³. MS (ESI): [M+Na]⁺ = 1311,4. Pro C₄₉H₇₆NaO₃₇S vypočteno 1311,3684.

6^I-Deoxy-6^I-sulfanyl- β -CD (3)

Sloučenina **3** byla připravena upraveným postupem podle literatury⁹⁴. Sloučenina **1** (511 mg, 0,40 mmol) a thiomočovina (507 mg, 6,66 mmol) byly rozpuštěny v 80%

vodném roztoku MeOH (25 ml). Směs byla míchána 21 hod při 110 °C pod refluxem. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (BuOH:EtOH:H₂O = 5:4:4, R_f = 0,23, detekce H₂SO₄). Reakční směs byla po zchladnutí na l. t. odpařena na RVO. Odparek byl suspendován v MeOH (8 ml) a míchán při l. t. 1,5 hodiny. Suspenze byla oddělena centrifugací (10 min), rozpuštěna v 2,5M vodném roztoku NaOH (2,5 ml) a zahřívána pod zpětným chladičem 5 hodin při 50 °C. Po samovolném ochlazení na l. t. byl roztok okyselen přidavkem 3% HCl (2,5 ml) do pH 2. Do roztoku byl přidán 1,1,1-trichlorethan (1,2 ml) a tato nemísitelná směs byla energicky míchána 15 hodin při l. t. Vytvořená sraženina byla oddělena centrifugací (10 min) a promyta vodou. Zbytky 1,1,1-trichlorethanu byly odstraněny povařením ve vodě, odpařením rozpouštědel na RVO a sušením při 100 °C na olejové lázni pod vakuem. Odparek byl za varu rozpuštěn v minimálním množství vody, naadsorbován na silikagelu (6 g) a přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (stonásobek hmotnosti silikagelu, mobilní fáze BuOH:EtOH:H₂O = 5:2:2). Tímto postupem bylo získáno 99 mg sloučeniny **3** ve formě bílé látky ve výtěžku 22 %. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ = 6.36–5.76 (m, 14 H, 7 × OH-2, 7 × OH-3), 4.90 (d, J = 3,0 Hz, 1H, H-1), 4.86–4.80 (m, 6 H, 6 × H-1), 4.66–4.28 (m, 6 H, 6 × OH-6), 3.80–3.14 (m, 7 × H-2, 7 × H-3, 7 × H-4, 7 × H-5, 14 × H-6 + H₂O) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁴. MS (ESI): $[M+Na]^+$ = 1173,5. Pro C₄₂H₇₀NaO₃₄S vypočteno 1173,3367.

Obecný postup ditosylace oligoethylenglykolů (OP1)

Sloučeniny **5a** – **5c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury⁹⁸. Oligoethylenglykol a TsCl (2 ekv.) byly rozpuštěny v DCM (15 ekv.). Roztok byl ochlazen soustavou voda-led na 0 °C. Za stálého chlazení byl k roztoku přisypáván drcený KOH (8 ekv.). Poté byla reakční směs 3 hodiny míchána při teplotě 0 – 10 °C. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce UV). Po samovolném zahřátí soustavy na l. t. byla reakční směs naředěna CHCl₃ a extrahována vodou (3 × 1:1). Chloroformové extrakty byly spojeny, přes noc sušeny pomocí MgSO₄ a poté odpařeny na RVO.

3-Oxapentan-1,5-diyl-bis(*p*-toluensulfonát) (**5a**)

Obecným postupem OP1 bylo získáno 15,408 g sloučeniny **5a** z DEG (4,000 g, 37,7 mmol) ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 99 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,20. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 4 H, 4 × CH), 7.32 (d, J = 8.1 Hz, 4 H, 4 × CH), 4.07 (t, J = 4.7 Hz, 4 H, 2 × CH₂), 3.59 (t, J = 4.7 Hz, 4 H, 2 × CH₂), 2.43 (s, 6 H, 2 × CH₃) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁸.

3,6-Dioxaoktan-1,8-diyl-bis(*p*-toluensulfonát) (5b)

Obecným postupem OP1 bylo získáno 30,639 g **5b** z TEG (10,113 g, 67,3 mmol) ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 99 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,43. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.77 (d, J = 8.4 Hz, 4 H, 4 \times CH), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 4 H, 4 \times CH), 4.12 (t, J = 4.7 Hz, 4 H, 2 \times CH_2), 3.63 (t, J = 4.8 Hz, 4 H, 2 \times CH_2), 3.50 (s, 4 H, 2 \times CH_2), 2.42 (s, 6 H, 2 \times CH_3) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁸.

3,6,9-Trioxaundekan-1,11-diyl-bis(*p*-toluensulfonát) (5c)

Obecným postupem OP1 bylo získáno 25,494 g sloučeniny **5c** z TeEG (10,008 g, 51,53 mmol) ve formě bílé gelovité látky tuhnoucí při nižších teplotách ve výtěžku 98 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,25. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.76 (d, J = 8.3 Hz, 4 H, 4 \times CH), 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 4 H, 4 \times CH), 4.13 (t, J = 4.8 Hz, 4 H, 2 \times CH_2), 3.68–3.51 (m, 12 H, 6 \times CH_2), 2.42 (s, 6 H, 2 \times CH_3) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁸.

Obecný postup bis(thioacetylce) ditosylovaných oligoethylenglykolů (OP2)

Sloučeniny **6a** – **6c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury⁹⁹. Ditosylát **5a**, **5b** nebo **5c** byl společně s KSAC (5 ekv.) a NaI (0,1 ekv.) suspendován v acetonu (310 ekv.). Reakční směs byla 18 hodin míchána pod refluxem při 60 °C. Během této doby došlo ke změně barvy reakční soustavy z bílé na žlutooranžovou. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Do reakční směsi bylo po ochlazení na l. t. přidáno minimální množství vody pro rozpuštění všech pevných částic v reakční soustavě. Po přidavku vody byl pozorován únik plynu. Poté byl roztok extrahován CHCl_3 (1:1). Chloroformový extrakt byl ještě protřepán s vodou (2 \times 1:1). Chloroformová fáze byla odpařena dosucha na RVO. Odparek byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (stonásobek hmotnosti odparku).

***S,S'*-(3-Oxapentan-1,5-diyl)-bis(thioacetát) (6a)**

Obecným postupem OP2 bylo získáno 647 mg sloučeniny **6a** z ditosylátu **5a** (1,500 g, 3,62 mmol) ve formě oranžového oleje ve výtěžku 80 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,52. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.56 (t, J = 6.4 Hz, 4 H, 2 \times CH_2), 3.05 (t, J = 6.4 Hz, 4 H, 2 \times CH_2), 2.32 (s, 6 H, 2 \times CH_3) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁹.

***S,S'*-(3,6-Dioxaoktan-1,8-diyl)-bis(thioacetát) (6b)**

Obecným postupem OP2 bylo získáno 49 mg sloučeniny **6b** z ditosylátu **5b** (100 mg, 0,23 mmol) ve formě tmavě oranžového oleje ve výtěžku 86 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,39. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR

(300 MHz, CDCl_3): δ = 3.62–3.55 (m, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 3.08 (t, J = 6.4 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.32 (s, 6 H, $2 \times \text{CH}_3$) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁹.

***S,S'*-(3,6,9-Trioxaundekan-1,11-diyl)-bis(thioacetát) (6c)**

Obečným postupem OP2 bylo získáno 749 mg sloučeniny **6c** z ditosylátu **5c** (1,500 g, 2,98 mmol) ve formě žlutooranžového oleje ve výtěžku 94 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:2, R_f = 0,65. Sloupcová chromatografie – CHCl_3 :MeOH = 70:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.63–3.55 (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.08 (t, J = 6.5 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.32 (s, 6 H, $2 \times \text{CH}_3$) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁰.

Obečný postup deacetylace bis(thioacetylovaných) oligoethylenglykolů (OP3)

Sloučeniny **7a** – **7c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁰. Bis(thioacetát) **6a**, **6b** nebo **6c** byl rozpuštěn ve směsi MeOH (40 ekv.), H_2O (90 ekv.) a HCl (3 ekv.). Směs MeOH, H_2O a HCl byla předem probublána argonem (2 min), vystavena UZ (10 min) a opět probublávána argonem (10 min) pro odstranění veškerého rozpuštěného kyslíku. Reakční směs byla v inertní atmosféře zahřívána na 120 °C pod refluxem 3 hodiny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Po ochlazení na l. t. byla reakční směs naředěna vodou na dvojnásobný objem a extrahována CHCl_3 ($3 \times 1:1$). Organická fáze byla odpařena na RVO a čištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (stopadesátinásobek hmotnosti odparku).

3-Oxapentan-1,5-dithiol (7a)

Obečným postupem OP3 bylo získáno 266 mg sloučeniny **7a** z bis(thioacetátu) **6a** (580 mg, 2,61 mmol) ve formě žlutého oleje ve výtěžku 74 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,47. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.59 (t, J = 6.3 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.68 (dt, J = 8.2, 6.3 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.58 (t, J = 8.2 Hz, 2 H, $2 \times \text{SH}$) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁹.

3,6-Dioxaoktan-1,8-dithiol (7b)

Obečným postupem OP3 bylo získáno 411 mg sloučeniny **7b** z bis(thioacetátu) **6b** (779 mg, 3,09 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 73 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,35. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.63–3.58 (m, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 2.68 (dt, J = 8.2, 6.4 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.57 (t, J = 8.2 Hz, 2 H, $2 \times \text{SH}$) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁹.

3,6,9-Trioxaundekan-1,11-dithiol (7c)

Obečným postupem OP3 bylo získáno 423 mg sloučeniny **7c** z bis(thioacetátu) **6c** (675 mg, 2,53 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 74 %. TLC – hexan:EtOAc =

1:2, $R_f = 0,59$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 3:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.68\text{--}3.57$ (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 2.68 (dt, $J = 8.1, 6.4$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.57 (t, $J = 8.1$ Hz, 2 H, $2 \times \text{SH}$) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁰.

Obecný postup pro připojení dithiolu na β -CD (OP4)

Cyklodextrinový derivát **1** byl v inertní atmosféře suspendován v roztoku MeOH (1600 ekv.) a H_2O (3600 ekv.) s přidavkem Na_2CO_3 (2,5 ekv.). Tento roztok byl předem probublán argonem (2 min), vystaven UZ (10 minut) a následně opět probubláván argonem (10 min) pro odstranění veškerého rozpuštěného kyslíku. Poté byl přidán dithiol (9,5 ekv.) a reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem v argonové atmosféře při 50 °C 20 hodin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (BuOH:EtOH: H_2O = 5:4:4, detekce H_2SO_4). Po zchladnutí reakční směsi na l. t. byl roztok neutralizován přidavkem 50% HOAc. Nezareagovaný dithiol byl po naředění reakční soustavy vodou na dvojnásobný objem oddělen extrakcí reakční směsi CHCl_3 (3 \times 1:1). Vodná fáze byla odpařena na RVO. Odparek byl naadsorbován na silikagel (desetinásobek hmotnosti odparku) a přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (dvěstěnášobek hmotnosti odparku).

6^I-Deoxy-6^I-((5-sulfanyl-3-oxapentan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4a)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 233 mg sloučeniny **4a** ze sloučeniny **1** (330 mg, 0,26 mmol) a dithiolu **7a** ve formě bílé látky ve výtěžku 73 %. TLC – $R_f = 0,53$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH: H_2O = 5:2:2. ^1H NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 5.81\text{--}5.65$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, H-1), 4.85–4.81 (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), 4.50–4.47 (m, 1 H, OH-6), 4.47–4.42 (m, 5 H, $5 \times \text{OH-6}$), 3.81–3.74 (m, 2 H, H-5^I, H-6), 3.70–3.52 (m, 26 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$), 3.52 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H, $2 \times \text{H-2'}$), 3.48 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, $2 \times \text{H-3'}$), 3.41–3.27 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.04–2.99 (m, 1 H, H-6^I), 2.79–2.73 (m, 1 H, H-6^I), 2.73–2.68 (m, 2 H, $2 \times \text{H-1'}$), 2.60 (dt, $J = 8.0, 6.6$ Hz, 2 H, H-4'), 2.24 (t, $J = 8.1$ Hz, 1 H, SH) ppm. ^{13}C NMR (600 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 102.29$ (C-1), 101.95–101.94 ($5 \times \text{C-1}$), 101.64 (C-1), 84.87 (C-4^I), 81.56–81.37 ($6 \times \text{C-4}$), 73.02–71.98 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.76 (C-3'), 71.27 (C-5^I), 69.63 (C-2'), 59.91 ($6 \times \text{C-6}$), 33.45 (C-6^I), 31.94 (C-1'), 22.72 (C-4') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1277,5$. Pro $\text{C}_{46}\text{H}_{78}\text{NaO}_{35}\text{S}_2$ vypočteno 1277,3663.

6^I-Deoxy-6^I-((8-sulfanyl-3,6-dioxaoktan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4b)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 180 mg sloučeniny **4b** ze sloučeniny **1** (300 mg, 0,23 mmol) a dithiolu **7b** ve formě bílé látky ve výtěžku 60 %. TLC – $R_f = 0,56$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH: H_2O = 5:2:2. ^1H NMR (600 MHz, d_6 -DMSO):

$\delta = 5.87\text{--}5.62$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.5$ Hz, 1 H, H-1), $4.85\text{--}4.81$ (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), $4.44\text{--}4.35$ (m, 6 H, $6 \times \text{OH-6}$), $3.81\text{--}3.72$ (m, 2 H, H-5^I, H-6), $3.71\text{--}3.49$ (m, 34 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$, $2 \times \text{H-2'}$, $2 \times \text{H-3'}$, $2 \times \text{H-4'}$, $2 \times \text{H-5'}$), $3.41\text{--}3.24$ (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), $3.04\text{--}2.99$ (m, 1 H, H-6^I), 2.90^* (t, $J = 6.4$, 2 H, $2 \times \text{H-6'}$), $2.82\text{--}2.76$ (m, 1 H, H-6^I), $2.76\text{--}2.67$ (m, 2 H, $2 \times \text{H-1'}$) ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 102.23$ (C-1), 101.91 ($5 \times \text{C-1}$), 101.66 (C-1), 84.64 (C-4^I), 81.52–81.49 ($6 \times \text{C-4}$), 73.01–71.94 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.32 (C-5^I), 69.96 (C-2'), 69.48–69.31 (C-3', C-4'), 68.60 (C-5'), 59.90 ($6 \times \text{C-6}$), 37.80* (C-6'), 33.25 (C-6^I), 31.85 (C-1') ppm, ve shodě s literaturou²⁸. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1321,5$. Pro C₄₈H₈₂NaO₃₆S₂ vypočteno 1321,3925.

6^I-Deoxy-6^I-((11-sulfanyl-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4c)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 278 mg sloučeniny **4c** ze sloučeniny **1** (302 mg, 0,23 mmol) a dithiolu **7c** ve formě bílé látky ve výtěžku 88 %. TLC – $R_f = 0,54$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH:H₂O = 5:2:2. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 5.80\text{--}5.66$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, H-1), $4.85\text{--}4.81$ (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), $4.49\text{--}4.42$ (m, 6 H, $6 \times \text{OH-6}$), $3.80\text{--}3.72$ (m, 2 H, H-5^I, H-6), $3.71\text{--}3.53$ (m, 38 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$, $2 \times \text{H-2'}$, $2 \times \text{H-3'}$, $2 \times \text{H-4'}$, $2 \times \text{H-5'}$, $2 \times \text{H-6'}$, $2 \times \text{H-7'}$), $3.41\text{--}3.26$ (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), $3.04\text{--}2.98$ (m, 1 H, H-6^I), 2.89^* (t, $J = 6.4$, 2 H, $2 \times \text{H-8'}$), $2.81\text{--}2.75$ (m, 1 H, H-6^I), $2.75\text{--}2.66$ (m, 2 H, $2 \times \text{H-1'}$) ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 102.29$ (C-1), 101.97 ($5 \times \text{C-1}$), 101.67 (C-1), 84.89 (C-4^I), 81.56–81.40 ($6 \times \text{C-4}$), 73.06–71.99 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.36 (C-5^I), 70.05–69.41 (C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'), 68.62 (C-7'), 59.92 ($6 \times \text{C-6}$), 37.78* (C-8'), 33.33 (C-6^I), 31.88 (C-1') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1365,6$. Pro C₅₀H₈₆NaO₃₇S₂ vypočteno 1365,4187.

6^I-Deoxy-6^I-((2-sulfanylethan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4d)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 182 mg sloučeniny **4d** ze sloučeniny **1** (298 mg, 0,23 mmol) a ethan-1,2-dithiolu ve formě bílé látky ve výtěžku 65 %. TLC – $R_f = 0,23$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH:H₂O = 5:2:2 (2000 ml) poté 5:4:4. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 5.81\text{--}5.65$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H, H-1), $4.85\text{--}4.80$ (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), $4.50\text{--}4.42$ (m, 6 H, $6 \times \text{OH-6}$), $3.81\text{--}3.76$ (m, 1 H, H-5^I), $3.76\text{--}3.70$ (m, 1 H, H-6), $3.70\text{--}3.52$ (m, 26 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$), $3.40\text{--}3.27$ (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), $3.05\text{--}3.00$ (m, 1 H, H-6^I), $2.93\text{--}2.88^*$ (m, 2 H, H-2'), $2.88\text{--}2.80$ (m, 3 H, H-6^I, $2 \times \text{H-2'}$) ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 102.27$ (C-1), 101.96 ($5 \times \text{C-1}$), 101.71 (C-1), 84.60 (C-4^I), 81.67–81.49 ($6 \times \text{C-4}$), 73.06–

72.03 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.31 (C-5^{I}), 60.09–59.85 ($6 \times \text{C-6}$), 38.03* ($\text{C-2}'$), 32.96 (C-6^{I}), 31.92 ($\text{C-1}'$) ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1232,4$. Pro $\text{C}_{44}\text{H}_{74}\text{NaO}_{34}\text{S}_2$ vypočteno 1233,3401.

6^I-Deoxy-6^I-((3-sulfanylpropan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4e)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 275 mg sloučeniny **4e** ze sloučeniny **1** (400 mg, 0,31 mmol) a propan-1,3-dithiolu ve formě bílé látky ve výtěžku 72 %. TLC – $R_f = 0,55$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH:H₂O = 5:2:2. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 6.01\text{--}5.68$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.7$ Hz, 1 H, H-1), 4.85–4.79 (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), 4.54–4.40 (m, 6 H, $6 \times \text{OH-6}$), 3.83–3.72 (m, 2 H, H-5^I, H-6), 3.70–3.51 (m, 26 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$), 3.43–3.25 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.01–2.95 (m, 1 H, H-6^I), 2.72–2.66 (m, 1 H, H-6^I), 2.75–2.58 (m, 2 H, $2 \times \text{H-1}'$), 2.53–2.48 (m, 2 H, $2 \times \text{H-3}' + \text{DMSO}$), 1.77–1.72 (m, 2 H, $2 \times \text{H-2}'$) ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 102.36$ (C-1), 101.98 ($5 \times \text{C-1}$), 101.61 (C-1), 85.08 (C-4^I), 81.54–81.42 ($5 \times \text{C-4}$), 81.42 (C-4), 73.08–72.04 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.04 (C-5^I), 59.93–59.85 ($6 \times \text{C-6}$), 33.36 (C-2'), 33.14 (C-6^I), 30.76 (C-1'), 22.75 (C-3') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1247,5$. Pro $\text{C}_{45}\text{H}_{76}\text{NaO}_{34}\text{S}_2$ vypočteno 1247,3557.

6^I-Deoxy-6^I-((5-sulfanylpentan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4f)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 181 mg sloučeniny **4f** ze sloučeniny **1** (298 mg, 0,23 mmol) a pentan-1,5-dithiolu ve formě bílé látky ve výtěžku 62 %. TLC – $R_f = 0,30$. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH:H₂O = 5:4:4. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 5.85\text{--}5.62$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.88–4.85 (m, 1 H, H-1), 4.85–4.79 (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), 4.53–4.40 (m, 6 H, $6 \times \text{OH-6}$), 3.83–3.72 (m, 2 H, H-5^I, H-6), 3.72–3.50 (m, 26 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$), 3.42–3.26 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.01–2.94 (m, 1 H, H-6^I), 2.77–2.71 (m, 1 H, H-6^I), 2.71–2.65* (m, 2 H, $2 \times \text{H-5}'$), 2.56–2.51 (m, 2 H, $2 \times \text{H-1}' + \text{DMSO}$), 1.66–1.57 (m, 2 H, $2 \times \text{H-4}'$), 1.55–1.45 (m, 2 H, $2 \times \text{H-2}'$), 1.44–1.25 (m, 2 H, $2 \times \text{H-3}'$) ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 102.30$ (C-1), 101.95 ($5 \times \text{C-1}$), 101.70 (C-1), 84.90 (C-4^I), 81.67–81.28 ($6 \times \text{C-4}$), 73.05–72.00 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.22 (C-5^I), 59.91 ($6 \times \text{C-6}$), 37.62* (C-5'), 32.92 (C-6^I), 32.27 (C-1'), 28.77 (C-2'), 28.21 (C-4'), 26.92 (C-3') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1275,4$. Pro $\text{C}_{47}\text{H}_{80}\text{NaO}_{34}\text{S}_2$ vypočteno 1275,3870.

6^I-Deoxy-6^I-((8-sulfanyloktan-1-yl)sulfanyl)- β -CD (4g)

Obecným postupem OP4 bylo získáno 210 mg sloučeniny **4g** ze sloučeniny **1** (303 mg, 0,24 mmol) a oktan-1,8-dithiolu ve formě bílé látky ve výtěžku 69 %. TLC – $R_f =$

0,63. Sloupcová chromatografie – BuOH:EtOH:H₂O = 5:4:4. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ = 5.86–5.52 (m, 14 H, 7 \times OH-2, 7 \times OH-3), 4.86 (d, 1 H, J = 3.5 Hz, H-1), 4.85–4.80 (m, 6 H, 6 \times H-1), 4.55–4.32 (m, 6 H, 6 \times OH-6), 3.79–3.73 (m, 2 H, H-5^I, H-6), 3.69–3.51 (m, 26 H, 7 \times H-3, 2 \times H-4, 6 \times H-5, 11 \times H-6), 3.41–3.27 (m, 7 \times H-2, 5 \times H-4 + H₂O), 2.99–2.94 (m, 1 H, H-6^I), 2.74–2.70 (m, 1 H, H-6^I), 2.68* (t, J = 7.2 Hz, 2 H, 2 \times H-8'), 2.53 (t, J = 1.9 Hz, 2 H, 2 \times H-1' + DMSO), 1.64–1.57 (m, 2 H, 2 \times H-7'), 1.51–1.44 (m, 2 H, 2 \times H-2'), 1.37–1.20 (m, 8 H, 2 \times H-3', 2 \times H-4', 2 \times H-5', 2 \times H-6') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ = 102.30 (C-1), 101.95 (5 \times C-1), 101.67 (C-1), 84.84 (C-4^I), 81.53–81.40 (6 \times C-4), 73.05–72.03 (7 \times C-2, 7 \times C-3, 6 \times C-5), 71.26 (C-5^I), 59.90 (6 \times C-6), 37.74* (C-8'), 33.18 (C-6^I), 32.44 (C-1'), 29.22 (C-2'), 28.58 (C-7'), 28.58–27.77 (C-3', C-4', C-5', C-6') ppm. MS (ESI): [M+Na]⁺ = 1317,3. Pro C₅₀H₈₆NaO₃₄S₂ vypočteno 1317,4340.

Postup pro regeneraci dithiolu z reakční směsi

Chloroformová fáze získaná extrakcí reakční směsi (viz OP4) byla odpařena na RVO. Odparek byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (padesátinásobek hmotnosti odparku, mobilní fáze hexan:EtOAc = 4:1). Tímto postupem se podařilo regenerovat 57 – 76 % přidaného dithiolu.

Obecný postup diazidace ditosylovaných oligoethylenglykolů (OP5)

Sloučeniny **9a** a **9c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury⁹⁸. Ditosylát **5a** nebo **5c** byl rozpuštěn v DMF. Do roztoku byl přidán NaN₃ (4 ekv.) a TBAI (0,05 ekv.). Při přidavku NaN₃ reakční směs změnila barvu z bezbarvé na žlutou. Roztok byl míchán 18 hodin pod zpětným chladičem při 80 °C a reakce byla sledována pomocí TLC (detekce KMnO₄). Po zchladnutí reakční směsi na l. t. byla oddestilována téměř veškerá kapalina. Vlhký odparek byl suspendován v Et₂O (20 ml) a zfiltrován přes S3 fritu. Filtrát byl odpařen na RVO a odparek byl čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (čtyřicetinásobek hmotnosti odparku).

3-Oxapentan-1,5-diazid (**9a**)

Obecným postupem OP5 bylo získáno 1,636 g sloučeniny **9a** z ditosylátu **5a** (5,079 g, 12,25 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 86 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,58. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 5:1 do 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.69–3.64 (m, 4 H, 2 \times CH₂), 3.42–3.36 (m, 4 H, 2 \times CH₂) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁸.

3,6,9-Trioxaundekan-1,11-diazid (9c)

Obecným postupem OP5 bylo získáno 2,532 g sloučeniny **9c** z ditosylátu **5c** (6,086, 12,11 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 86 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, $R_f = 0,55$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 2:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.68\text{--}3.63$ (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.39–3.34 (m, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou⁹⁸.

Obecný postup Staudingerovy reakce u diazidovaných oligoethylenglykolů (OP6)

Sloučeniny **10a** – **10c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰². Diazid **9a** nebo **9c** byl rozpuštěn v THF (33 ekv.) a ochlazen na 0 °C. Do roztoku byl za stálého chlazení po částech přidán PPh_3 (3 ekv.). Reakční směs byla ještě 10 minut míchána při 0 °C, poté byla samovolně zahřáta na l. t. a míchána dalších 15 hodin. Do reakční směsi byla přidána voda (10 ekv.) a v míchání bylo pokračováno dalších 15 hodin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (MeOH:HOAc:1% vodný roztok NH_4OAc = 10:1:9, detekce ninhydrin). Reakční směs byla naředěna vodou (pětinásobek objemu THF) a třikrát extrahována toluenem (1:1). Vodná fáze byla odpařena na RVO. Odparek byl přečištěn přes silný katex, produkt byl vymýván 5% vodným roztokem NH_3 .

3-Oxapentan-1,5-diamin (10a)

Obecným postupem OP6 bylo získáno 837 mg sloučeniny **10a** z diazidu **9a** (1562 mg, 10,00 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 80 %. TLC – $R_f = 0,65$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.46$ (t, $J = 5.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.84 (t, $J = 5.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.46 (br s, 4 H, $2 \times \text{NH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁰.

3,6,9-Trioxaundekan-1,11-diamin (10c)

Obecným postupem OP6 bylo získáno 3,547 g sloučeniny **10c** z diazidu **9c** (5,496 g, 22,50 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 82 %. TLC – $R_f = 0,62$. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.65\text{--}3.55$ (m, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 3.47 (t, $J = 5.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.82 (t, $J = 5.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 1.62 (br s, 4 H, $2 \times \text{NH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹¹.

Obecný postup připojení diaminu na β -CD (OP7)

Sloučeniny **8** a **8a** – **8c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury³³. K cyklodextrinovému derivátu **1** byl přidán diamin (100 ekv.). Směs byla bez přídavku dalšího rozpouštědla míchána pod zpětným chladičem při 75 °C po dobu 20 hodin. Průběh

reakce byl sledován pomocí TLC (*n*-PrOH:H₂O:EtOAc:konc. roztok NH₃ = 5:5:3:3, detekce H₂SO₄, ninhydrin). Po ochlazení reakční směsi na l. t. byla reakční směs naředěna vodou (1 ml) a vysrážena acetonem (150 ml). Sraženina byla od roztoku oddělena centrifugací (5 min). Poté byla opět rozpuštěna ve vodě, vysrážena v acetonu a zcentrifugována. Tento postup byl opakován ještě několikrát, dokud byl pomocí TLC detekován nezreagovaný diamin.

6^I-((2-Aminoethan-1-yl)amino)-6^I-deoxy-β-CD (8)

Obecným postupem OP7 bylo získáno 115 mg sloučeniny **8** ze sloučeniny **1** (148 mg, 0,12 mmol) a ethan-1,2-diaminu ve formě nažloutlé pevné látky ve výtěžku 85 %. LC – R_f = 0,28. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.15–5.02 (m, 7 H, 7 × H-1), 4.02–3.56 (m, 39 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 6 × H-4, 7 × H-5, 12 × H-6), 3.46 (t, J = 9.4 Hz, 1 H, H-4^I), 2.96–2.93 (m, 1 H, H-6^I), 2.87–2.75 (m, 5 H, H-6^I, 2 × H-1', 2 × H-2') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, D₂O): δ = 102.28 (6 × C-1), 102.02 (C-1), 84.01 (C-4^I), 81.57 (5 × C-4), 81.38 (C-4), 73.50–72.25 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 70.70 (C-5^I), 60.62–60.53 (6 × C-6), 50.57 (C-6^I), 49.57 (C-1'), 40.00 (C-2') ppm, ve shodě s literaturou¹¹². MS (ESI): [M+H]⁺ = 1177,5. Pro C₄₄H₇₇N₂O₃₄ vypočteno 1177,4358.

6^I-((5-Amino-3-oxapentan-1-yl)amino)-6^I-deoxy-β-CD (8a)

Obecným postupem OP7 bylo získáno 99 mg sloučeniny **8a** ze sloučeniny **1** (152 mg, 0,12 mmol) a diaminu **10a** ve formě nažloutlé pevné látky ve výtěžku 69 %. TLC – R_f = 0,30. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.12–5.06 (m, 7 H, 7 × H-1), 4.00–3.56 (m, 43 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 6 × H-4, 7 × H-5, 12 × H-6, 2 × H-2', 2 × H-3'), 3.45 (t, J = 10.1 Hz, 1 H, H-4^I), 3.12–3.08 (m, 1 H, H-6^I), 2.90–2.87 (m, 2 H, 2 × H-4'), 2.86–2.83 (m, 1 H, H-6^I), 2.83–2.79 (m, 2 H, 2 × H-1') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, D₂O): δ = 102.22 (6 × C-1), 101.78 (C-1), 83.88 (C-4^I), 81.57–81.47 (5 × C-4), 81.10 (C-4), 73.44–72.18 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 71.37 (C-3'), 70.81 (C-5^I), 69.56 (C-2'), 60.60–60.40 (6 × C-6), 49.61 (C-6^I), 48.23 (C-1'), 40.17 (C-4') ppm. MS (ESI): [M+H]⁺ = 1221,4. Pro C₄₆H₈₁N₂O₃₅ vypočteno 1221,4620.

6^I-((8-Amino-3,6-dioxaoktan-1-yl)amino)-6^I-deoxy-β-CD (8b)

Obecným postupem OP7 bylo získáno 115 mg sloučeniny **8b** ze sloučeniny **1** (151 mg, 0,12 mmol) a 3,6-dioxaoktan-1,8-diaminu ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 78 %. TLC – R_f = 0,34. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.10–5.04 (m, 7 H, 7 × H-1), 3.97–3.54 (m, 47 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 6 × H-4, 7 × H-5, 12 × H-6, 2 × H-2', 2 × H-3', 2 × H-4', 2 × H-5'), 3.45 (t, J = 9.4 Hz, 1 H, H-4^I), 3.11–3.06 (m, 1 H, H-6^I), 2.92–2.87 (m, 2 H, 2 ×

H-6'), 2.84 (dd, $J = 12.8, 8.8$ Hz, 1 H, H-6^I), 2.81–2.77 (m, 2 H, 2 × H-1') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, D₂O): $\delta = 102.62\text{--}102.56$ (6 × C-1), 102.30 (C-1), 84.31 (C-4^I), 81.82–81.77 (5 × C-4), 81.53 (C-4), 73.72–72.54 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 71.46 (C-5'), 70.84 (C-5^I), 70.24–69.93 (C-2', C-3', C-4'), 60.82 (C-6), 60.77 (4 × C-6), 60.62 (C-6), 49.69 (C-6^I), 48.25 (C-1'), 40.28 (C-6') ppm, ve shodě s literaturou³⁷. MS (ESI): $[M+H]^+ = 1265,5$. Pro C₄₈H₈₅N₂O₃₆ vypočteno 1265,4882.

6^I-((11-Amino-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)amino)-6^I-deoxy- β -CD (8c)

Obecným postupem OP7 bylo získáno 264 mg sloučeniny **8c** ze sloučeniny **1** (284 mg, 0,22 mmol) a diaminu **10c** ve formě nažloutlé pevné látky ve výtěžku 92 %. TLC – $R_f = 0,38$. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): $\delta = 5.15\text{--}5.03$ (m, 7 H, 7 × H-1), 4.01–3.54 (m, 51 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 6 × H-4, 7 × H-5, 12 × H-6, 2 × H-2', 2 × H-3', 2 × H-4', 2 × H-5', 2 × H-6', 2 × H-7'), 3.44 (t, $J = 9.3$ Hz, 1 H, H-4^I), 3.14–3.07 (m, 1 H, H-6^I), 2.91 (t, $J = 5,3$ Hz, 2 H, 2 × H-8'), 3.86–2.76 (m, 3 H, H-6^I, 2 × H-1') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, D₂O): $\delta = 102.23\text{--}102.11$ (6 × C-1), 101.64 (C-1), 84.07 (C-4^I), 81.42–81.26 (5 × C-4), 80.90 (C-4), 73.45–72.13 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 71.69 (C-7'), 70.66 (C-5^I), 70.06–69.61 (C-2', C-3', C-4' C-5', C-6'), 60.53–60.36 (6 × C-6), 49.41 (C-6^I), 47.81 (C-1'), 40.18 (C-8') ppm. MS (ESI): $[M+H]^+ = 1309,5$. Pro C₅₀H₈₉N₂O₃₇ vypočteno 1309,5144.

6^I-((2-Aminoethan-1-yl)sulfanyl)-6^I-deoxy- β -CD (11)

K cyklodextrinovému derivátu **1** (200 mg, 0,16 mmol) byl pod inertní atmosférou přidán cysteamin (143 mg, 1,85 mmol). Směs byla rozpuštěna v 50% vodném roztoku MeOH (20 ml) s přidavkem Na₂CO₃ (80 mg, roztok o pH 12), tento roztok byl předem probubláván argonem (2 min), vystaven UZ (10 min) a poté opět probublán argonem (10 min) pro odstranění nežádoucího kyslíku. Reakční směs byla pod zpětným chladičem míchána v argonové atmosféře při 60 °C 15,5 hodiny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (*n*-PrOH:H₂O:EtOAc:konc. roztok NH₃ = 5:5:3:3, $R_f = 0,41$, detekce H₂SO₄). Po ochlazení na l. t. byla z reakční směsi na RVO odpařena všechna rozpouštědla. Odparek byl po rozpuštění v 50% vodného roztoku MeOH (2 ml) a adsorpci na silikagel (3 g) čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (50 g, mobilní fáze *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ = 5:2:2). Tímto postupem se podařilo získat 155 mg sloučeniny **11** ve formě lehce nažloutlé pevné látky ve výtěžku 84 %. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): $\delta = 5.16\text{--}5.12$ (m, 1 H, H-1), 5.11–5.05 (m, 6 H, 6 × H-1), 4.02 (dd, $J = 12.2, 1.7$ Hz, 1 H, H-6), 3.98–3.54 (m, 39 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 7 × H-4, 7 × H-5, 11 × H-6), 3.14 (dd, $J = 13.7, 2.0$ Hz, 1 H, H-6^I), 2.92–2.89 (m, 1 H, H-6^I), 2.88 (t, $J = 6.5$ Hz, 2 H, 2 × H-2'), 2.76 (t, $J = 6.5$ Hz, 2 H, 2 ×

H-1') ppm. ^{13}C NMR (600 MHz, D_2O): $\delta = 102.32$ ($6 \times \text{C-1}$), 101.99 (C-1), 84.62 (C-4^{I}), $81.68\text{--}81.58$ ($6 \times \text{C-4}$), $73.54\text{--}72.31$ ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.62 (C-5^{I}), 60.90 (C-6), $60.68\text{--}60.62$ ($5 \times \text{C-6}$), 39.95 ($\text{C-2}'$), 34.75 ($\text{C-1}'$), 32.99 (C-6^{I}) ppm, ve shodě s literaturou⁴⁶. MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1194,4$. Pro $\text{C}_{44}\text{H}_{76}\text{NO}_{34}\text{S}$ vypočteno 1194,3969.

Obecný postup dibromace ditosylovaných oligoethylenglykolů (OP8)

Sloučeniny **12a** – **12c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁴. Oligoethylenglykol a PPh_3 (2 ekv.) byly rozpuštěny v THF (19 ekv.). Kvůli exotermní povaze reakce byl CBr_4 (2 ekv.) přidáván po částech. Reakční směs byla 5 hodin míchána při 1. t. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Vzniklá bíložlutá sraženina byla zfiltrována přes S4 fritu. Filtrát byl odpařen na RVO a rozpuštěn v minimálním množství DCM. Trifenylfosfinoxid byl vysrážen po přidavku dvacetinásobku hexanu a odfiltrován přes S4 fritu. Vysrážení Ph_3PO bylo ještě jednou zopakováno. Filtrát byl odpařen na RVO a odparek byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (patnáctinásobek hmotnosti odparku).

1,5-Dibrom-3-oxapentan (12a)

Obecným postupem OP8 bylo získáno 311 mg sloučeniny **12a** z DEG (200 mg, 1,86 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 71 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, $R_f = 0,80$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 10:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.82$ (t, $J = 6.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.46 (t, $J = 6.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹³.

1,8-Dibrom-3,6-dioxaoktan (12b)

Obecným postupem OP8 bylo získáno 236 mg sloučeniny **12b** z TEG (200 mg, 1,33 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 64 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, $R_f = 0,66$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 15:1 do 7:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.81$ (t, $J = 6.2$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.67 (s, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.46 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁴.

1,11-Dibrom-3,6,9-trioxaundekan (12c)

Obecným postupem OP8 bylo získáno 13,169 g sloučeniny **12c** z TeEG (9,000 g, 46,34 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 89 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, $R_f = 0,63$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 1:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.80$ (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.66 (s, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 3.45 (t, $J = 6.3$ Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁴.

Obecný postup monoftalimidace dibromovaných oligoethylenglykolů (OP9)

Sloučeniny **13a** – **13c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁴. Dibromid **12a**, **12b** nebo **12c** byl společně s ftalimidem draselným (1 ekv.) suspendován v THF (13,5 ekv.) a DMF (8,5 ekv.). Reakční směs byla zahřata na 90 °C a míchána pod refluxem 20 hodin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce UV, KMnO₄). Po zchladnutí na l. t. byla reakční směs zakoncentrována na polovinu svého původního objemu. Poté byla směs naředěna EtOAc na dvojnásobný objem a extrahována vodou (2 × 1:1) a nasyceným roztokem NaCl (2 × 1:1). Organická fáze byla odpařena na RVO. Deriváty DEG a TEG byly po rozpuštění v CHCl₃ adsorbovány na silikagel (pětinašobek hmotnosti odparku). Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (padesátinašobek hmotnosti odparku). Během chromatografie bylo regenerováno 18 – 20 % výchozího dibromidu.

***N*-(5-Brom-3-oxapentan-1-yl)ftalimid (**13a**)**

Obecným postupem OP9 bylo získáno 2,050 g sloučeniny **13a** z dibromidu **12a** (2,715 g, 11,71 mmol) ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 59 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,66. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.83 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.69 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H, 2 × CH), 3.89 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, CH₂), 3.78 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH₂), 3.74 (t, J = 5.5 Hz, 2 H, CH₂), 3.38 (t, J = 6.2 Hz, 2 H, CH₂) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁵.

***N*-(8-Brom-3,6-dioxaoktan-1-yl)ftalimid (**13b**)**

Obecným postupem OP9 bylo získáno 3,744 g sloučeniny **13b** z dibromidu **12b** (6,367 g, 23,07 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 47 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,39. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.83 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.69 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H, 2 × CH), 3.88 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, CH₂), 3.76–3.68 (m, 4 H, 2 × CH₂), 3.65–3.57 (m, 4 H, 2 × CH₂), 3.36 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH₂) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁴.

***N*-(11-Brom-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)ftalimid (**13c**)**

Obecným postupem OP9 bylo získáno 7,309 g sloučeniny **13c** z dibromidu **12c** (12,500 g, 39,06 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 48 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,44. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.82 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.69 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 3.88 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.74 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH₂), 3.72 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.65–3.55 (m, 8 H, 4 × CH₂), 3.42 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH₂) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁵.

Obecný postup thioacetylce oligoethylenglykolů zakončených ftalimidovou a bromidovou skupinou (OP10)

Sloučeniny **14a** – **14c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁴. Oligoethylenglykolový derivát **13a**, **13b** nebo **13c** byl společně s KSAc (3 ekv.) suspendován v ACN (170 ekv.). Reakční směs byla zahřáta na 90 °C a míchána pod refluxem 2 hodiny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce UV, KMnO₄). Po samovolném ochlazení žlutooranžové suspenze na l. t. bylo do reakční soustavy přidáno minimální množství vody pro rozpuštění veškeré suspenze, při kterém vznikl plyn. Roztok byl zakoncentrován na 50 ml a naředěn vodou (150 ml). Směs byla poté extrahována EtOAc (200 ml). Organická fáze byla ještě dvakrát třepána s vodou (1:1) a odpařena na RVO. Deriváty DEG a TEG byly po rozpuštění v chloroformu adsorbovány na silikagel (trojnásobek hmotnosti odparku). Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (padesátinásobek hmotnosti odparku).

S-(5-Ftalimido-3-oxapentan-1-yl)-thioacetát (**14a**)

Obecným postupem OP10 bylo získáno 1,922 g sloučeniny **14a** z derivátu **13a** (2,000 g, 6,71 mmol) ve formě bíložluté pevné látky ve výtěžku 98 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,64. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.83 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.70 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 3.86 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.69 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.56 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH₂), 3.00 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH₂), 2.23 (s, 3 H, CH₃) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁵.

S-(8-Ftalimido-3,6-dioxaoktan-1-yl)thioacetát (**14b**)

Obecným postupem OP10 bylo získáno 3,344 g sloučeniny **14b** z derivátu **13b** (3,515 g, 10,27 mmol) ve formě bílohnědé pevné látky ve výtěžku 97 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,32. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 2:1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.82 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, 2 × CH), 7.69 (dd, J = 5.5, 3.0 Hz, 2 H, 2 × CH), 3.88 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.72 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH₂), 3.63–3.52 (m, 4 H, 2 × CH₂), 3.51 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH₂), 2.99 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH₂), 2.29 (s, 3 H, CH₃) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁴.

S-(11-Ftalimido-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)thioacetát (**14c**)

Obecným postupem OP10 bylo získáno 6,716 g sloučeniny **14c** z derivátu **13c** (7,124 g, 18,44 mmol) ve formě bílohnědé pevné látky ve výtěžku 96 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:2, R_f = 0,51. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od

2:1 do 1:2. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.82 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, $2 \times \text{CH}$), 7.69 (dd, J = 5.4, 3.1 Hz, 2 H, $2 \times \text{CH}$), 3.88 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.72 (t, J = 5.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.65–3.49 (m, 10 H, $5 \times \text{CH}_2$), 3.04 (t, J = 6.5 Hz, 2 H, CH_2), 2.30 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁵.

Obecný postup monoazidace ditosylovaných oligoethylenglykolů (OP11)

Sloučeniny **18a** – **18c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁶. Ditosylát **5a**, **5b** nebo **5c** a NaN_3 (1,1 ekv.) byly rozpuštěny v EtOH (160 ekv.). Směs byla míchána pod refluxem při 80 °C 3 hodiny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Po samovolném ochlazení reakční soustavy na l. t. byl roztok naředěn CHCl_3 (200 ml) a dvakrát extrahován vodou (1:1). Chloroformová fáze byla odpařena na RVO. Odparek byl po rozpuštění v min. množství CHCl_3 adsorbován na silikagel (dvojnásobek hmotnosti odparku) a čištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (třicetinásobek hmotnosti odparku).

5-Azido-3-oxapentan-1-yl-(*p*-toluensulfonát) (**18a**)

Obecným postupem OP11 bylo získáno 3,466 g sloučeniny **18a** z ditosylátu **5a** (11,909 g, 28,73 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 42 %. Zároveň bylo získáno 23 % diazidu **9a** a 11 % výchozího ditosylátu **5a**. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,34. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 3:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.79 (d, J = 8.3 Hz, 2 H, $2 \times \text{CH}$), 7.33 (d, J = 8.0 Hz, 2 H, $2 \times \text{CH}$), 4.15 (t, J = 4.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.68 (t, J = 4.8 Hz, 2 H, CH_2), 3.58 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 3.30 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 2.43 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁶.

8-Azido-3,6-dioxaoktan-1-yl(*p*-toluensulfonát) (**18b**)

Obecným postupem OP11 bylo získáno 1,602 g sloučeniny **18b** z ditosylátu **5b** (4,986 g, 10,88 mmol) a ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 45 %. Zároveň bylo získáno 21 % diazidu **9b** a 16 % výchozího ditosylátu **5b**. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,37. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 3:1 do 1:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.78 (d, J = 8.4 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}$), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}$), 4.14 (t, J = 4.7 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.71–3.56 (m, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 3.34 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 2.43 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁶.

11-Azido-3,6,9-trioxaundekan-1-yl(*p*-toluensulfonát) (**18c**)

Obecným postupem OP11 bylo získáno 2,856 g sloučeniny **18c** z ditosylátu **5c** (9,579 g, 19,06 mmol) a ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 40 %. Zároveň bylo získáno 15 % diazidu **9c** a 20 % výchozího ditosylátu **5c**. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f =

0,45. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = gradientově od 2:1 do 1:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}$), 7.31 (d, J = 8.0 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}$), 4.13 (t, J = 4.8 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.70–3.52 (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.35 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 2.42 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁶.

Obecný postup thioacetylce oligoethylenglykolových derivátů zakončených azidovou a tosylátovou skupinou (OP12)

Sloučeniny **19a** – **19c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁷. Oligoethylenglykolový derivát **18a**, **18b** nebo **18c** a KSAc (1,5 ekv.) byly suspendovány v EtOH (110 ekv.). Směs byla míchána pod zpětným chladičem 12 hodin při 70 °C. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Během zahřívání reakční směs zoranžověla. Suspenze byla po zchladnutí reakční soustavy na l. t. rozpuštěna přidávkem vody za vzniku plynu. Reakční směs byla roztřepána mezi CHCl_3 a H_2O (1:1), chloroformová vrstva byla ještě dvakrát extrahována vodou (1:1) a poté odpařena. Odparek byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (osmdesátinásobek hmotnosti odparku).

S-(5-Azido-3-oxapentan-1-yl)-thioacetát (19a)

Obecným postupem OP12 bylo získáno 1,961 g sloučeniny **19a** z tosylátu **18a** (3,163 g, 11,09 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 94 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,61. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 3:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.62 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 3.59 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH_2), 3.35 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 3.08 (t, J = 6.3 Hz, 2 H, CH_2), 2.32 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁷.

S-(8-Azido-3,6-dioxaoktan-1-yl)-thioacetát (19b)

Obecným postupem OP12 bylo získáno 3327 mg sloučeniny **19b** z tosylátu **18b** (5351 mg, 16,25 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 88 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,50. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.66 (t, J = 4.4 Hz, 2 H, CH_2), 3.66–3.51 (m, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.59 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH_2), 3.37 (t, J = 5.0 Hz, 2 H, CH_2), 3.08 (t, J = 6.4 Hz, 2 H, CH_2), 2.32 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁷.

S-(11-Azido-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)-thioacetát (19c)

Obecným postupem OP12 bylo získáno 1,481 g sloučeniny **19c** z tosylátu **18c** (2,341 g, 6,27 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 85 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,50. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 2:1. ^1H NMR (300 MHz,

CDCl_3): $\delta = 3.69\text{--}3.54$ (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.37 (t, $J = 5.1$ Hz, 2 H, CH_2), 3.07 (t, $J = 6.5$ Hz, 2 H, CH_2), 2.31 (s, 3 H, CH_3) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁸.

Obecný způsob deacetylace oligoethylenglykolových derivátů zakončených thioacetylovou a azidovou skupinou (OP13)

Sloučeniny **20a** – **20c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁷. Oligoethylenglykolový derivát **19a**, **19b** a **19c** byl v inertní atmosféře zahříván s MeOH (40 ekv.), H_2O (90 ekv.) a HCl (1,5 ekv.) při 120 °C pod refluxem po dobu 2 hodin. Předem připravený roztok methanolu, vody a kyseliny byl předem probublán Ar (2 min), vystaven UZ (10 min) a opět probublán argonem (10 min) pro odstranění veškerého rozpuštěného kyslíku. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4). Po ochlazení na l. t. byla reakční směs naředěna vodou na dvojnásobný objem, extrahována s CHCl_3 (1:1), chloroformová fáze byla ještě dvakrát protřepána s vodou (1:1) a následně odpařena. Odparek byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (stonásobek hmotnosti odparku).

5-Azido-3-oxapentan-1-thiol (20a)

Obecným postupem OP13 bylo získáno 867 mg sloučeniny **20a** z thioacetátu **19a** (1,295 g, 6,84 mmol) ve formě lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 86 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, $R_f = 0,47$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.64$ (t, $J = 5.0$ Hz, 2 H, CH_2), 3.62 (t, $J = 6.4$ Hz, 2 H, CH_2), 3.37 (t, $J = 5.0$ Hz, 2 H, CH_2), 2.69 (dt, $J = 8.2, 6.3$ Hz, 2 H, CH_2), 1.61 (t, $J = 8.3$ Hz, 1 H, SH) ppm.

8-Azido-3,6-dioxaoktan-1-thiol (20b)

Obecným postupem OP13 bylo získáno 2,486 g sloučeniny **20b** z thioacetátu **19b** (3,279 g, 0,86 mmol) ve formě lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 92 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, $R_f = 0,45$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 4:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.71\text{--}3.57$ (m, 8 H, $4 \times \text{CH}_2$), 3.37 (t, $J = 5.0$ Hz, 2 H, CH_2), 2.68 (dt, $J = 8.2, 6.4$ Hz, 2 H, CH_2), 1.56 (t, $J = 8.2$ Hz, 1 H, SH) ppm, ve shodě s literaturou¹⁰⁷.

11-Azido-3,6,9-trioxaundekan-1-thiol (20c)

Obecným postupem OP13 bylo získáno 378 mg sloučeniny **20c** z thioacetátu **19c** (506 mg, 1,82 mmol) ve formě lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 88 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, $R_f = 0,43$. Sloupcová chromatografie – hexan:EtOAc = 2:1. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 3.68\text{--}3.57$ (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.37 (t, $J = 5.1$ Hz, 2 H, CH_2), 2.68 (dt, $J = 8.2, 6.4$ Hz, 2 H, CH_2), 1.57 (t, $J = 8.2$ Hz, 1 H, SH) ppm.

Obecný postup připojení oligoethylenglykolového derivátu zakončeného sulfanylovou a azido skupinou na β -CD (OP14)

3.27 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.03–2.99 (m, 1 H, H-6^{I}), 2.77 (dd, $J = 13.9, 7.0$ Hz, 1 H, H-6^{I}), 2.75–2.66 (m, 2 H, $2 \times \text{H-1}'$) ppm. ^{13}C NMR (600 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta = 102.30$ (C-1), 101.96 ($5 \times \text{C-1}$), 101.67 (C-1), 84.79 (C-4^I), 81.53–81.39 ($6 \times \text{C-4}$), 73.05–71.98 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.33 (C-5^I), 70.07 (C-2'), 69.65–69.48 (C-3', C-4'), 69.26 (C-5'), 59.91 ($6 \times \text{C-6}$), 49.97 (C-6'), 33.34 (C-6^I), 31.88 (C-1') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1330,4$. Pro $\text{C}_{48}\text{H}_{81}\text{N}_3\text{NaO}_{36}\text{S}$ vypočteno 1330,4218.

6^I-((11-Azido-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)sulfanyl)-6^I-deoxy- β -CD (21c)

Obecným postupem OP14 bylo získáno 253 mg sloučeniny **21c** z derivátu **1** (270 mg, 0,21 mmol) a oligoethylenglykolu **20c** ve formě bílé pevné látky ve výtěžku 89 %. TLC – $R_f = 0,53$. ^1H NMR (600 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta = 5.80\text{--}5.66$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.85 (d, $J = 3.6$ Hz, 1 H, H-1), 4.84–4.81 (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), 4.47 (t, $J = 5.5$ Hz, 1 H, OH-6), 4.46–4.42 (m, 5 H, $5 \times \text{OH-6}$), 3.79–3.74 (m, 2 H, H-5^{I} , H-6), 3.70–3.48 (m, 38 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$, $2 \times \text{H-2}'$, $2 \times \text{H-3}'$, $2 \times \text{H-4}'$, $2 \times \text{H-5}'$, $2 \times \text{H-6}'$, $2 \times \text{H-7}'$), 3.40–3.38 (m, 2 H, $2 \times \text{H-8}'$), 3.38–3.28 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.03–2.99 (m, 1 H, H-6^{I}), 2.77 (dd, $J = 13.9, 7.0$ Hz, 1 H, H-6^{I}), 2.75–2.66 (m, 2 H, $2 \times \text{H-1}'$) ppm. ^{13}C NMR (600 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta = 102.29$ (C-1), 101.97 ($5 \times \text{C-1}$), 101.67 (C-1), 84.78 (C-4^I), 81.56–81.40 ($6 \times \text{C-4}$), 73.06–71.99 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 71.37 (C-5^I), 70.03 (C-2'), 69.83–69.45 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 69.26 (C-7'), 59.91 ($6 \times \text{C-6}$), 49.99 (C-8'), 33.32 (C-6^I), 31.89 (C-1') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1374,6$. Pro $\text{C}_{50}\text{H}_{85}\text{N}_3\text{NaO}_{37}\text{S}$ vypočteno 1374,4480.

Obecný postup Staudingerovy redukce cyklodextrinových derivátů s připojeným oligoethylenglykolovým řetězcem přes síru a zakončeným azidovou skupinou (OP15)

Sloučeniny **22a** a **22b** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰⁸. K CD derivátům **21a**, **21b** nebo **21c** byl přidán PPh_3 (2,2 ekv.). Tato směs byla suspendována v DMF (100 ekv.) a míchána při l. t. 16 hodin. Poté byla do roztoku přidána voda (min. 100 ekv.) a směs byla míchána 6,5 hodiny pod zpětným chladičem při 90 °C. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC ($n\text{-PrOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{EtOAc}:\text{konc. roztok } \text{NH}_3 = 5:5:3:3$, detekce H_2SO_4). Reakční směs byla po ochlazení na l. t. naředěna vodou na 50 ml a extrahována s toluenem ($3 \times 1:1$). Vodná fáze byla na RVO odpařena téměř dosucha, naředěna vodou na 1 ml a nalita do acetonu (10000 ekv.). Vytvořená bílá sraženina byla od matečního louhu oddělena centrifugací (6 min), rozpuštěna ve vodě (1 ml) a znovu nalita do acetonu. Tento postup byl opakován ještě jedenkrát. Sraženina byla poté odpařena na

RVO, rozpuštěna v minimálním množství vody, naadsorbována na silikagel (desetinásobek hmotnosti odparku) a přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (dvěstěnásopek hmotnosti odparku).

6^I-((5-Amino-3-oxapentan-1-yl)sulfanyl)-6^I-deoxy-β-CD (22a)

Obecným postupem OP15 bylo získáno 136 mg sloučeniny **22a** z azidu **21a** (182 mg, 0,14 mmol) ve formě bílé práškové látky ve výtěžku 76 %. TLC – R_f = 0,40. Sloupcová chromatografie – *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ = 5:1:1. ¹H NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ = 5.88–5.64 (m, 14 H, 7 × OH-2, 7 × OH-3), 4.86 (d, J = 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.84–4.80 (m, 6 H, 6 × H-1), 4.56–4.04 (m, 6 × OH-6), 3.80 (dd, J = 12.1, 3.8 Hz, 1 H, H-6), 3.78–3.73 (m, 1 H, H-5^I), 3.70–3.52 (m, 26 H, 7 × H-3, 2 × H-4, 6 × H-5, 11 × H-6), 3.50 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 2 × H-2'), 3.50 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 2 × H-2'), 3.38–3.26 (m, 7 × H-2, 5 × H-4 + H₂O), 3.37 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, 2 × H-3'), 3.06–3.00 (m, 1 H, H-6^I), 2.74 (dd, J = 14.0, 7.6 Hz, 1 H, H-6^I), 2.70 (t, J = 6.8 Hz, 2 H, 2 × H-1'), 2.66 (t, J = 5.6 Hz, 2 H, 2 × H-4') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, d₆-DMSO): δ = 102.32 (C-1), 101.97 (5 × C-1), 101.63 (C-1), 84.98 (C-4^I), 81.66–81.54 (5 × C-4), 81.34 (C-4), 73.10–72.01 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 71.56 (C-3'), 71.14 (C-5^I), 69.78 (C-2'), 59.95–59.82 (6 × C-6), 40.84 (C-8'), 33.48 (C-6^I), 31.80 (C-1') ppm. MS (ESI): $[M+H]^+$ = 1238,3. Pro C₄₆H₈₀NO₃₅S vypočteno 1238,4232.

6^I-((8-Amino-3,6-dioxaoktan-1-yl)sulfanyl)-6^I-deoxy-β-CD (22b)

Obecným postupem OP15 bylo získáno 41 mg sloučeniny **22b** z azidu **21b** (74 mg, 0,06 mmol) ve formě bílé práškové látky ve výtěžku 57 %. TLC – R_f = 0,51. Sloupcová chromatografie – *n*-PrOH:H₂O:konc. roztok NH₃ = gradientově od 10:3:3 do 5:2:2. ¹H NMR (600 MHz, D₂O): δ = 5.17–5.13 (m, 1 H, H-1), 5.12–5.05 (m, 6 H, 6 × H-1), 4.06–4.01 (m, 2 H, 2 × H-6), 4.01–3.56 (m, 45 H, 7 × H-2, 7 × H-3, 6 × H-4, 7 × H-5, 10 × H-6, 2 × H-2', 2 × H-3', 2 × H-4', 2 × H-5'), 3.51 (t, J = 9.1 Hz, 1 H, H-4^I), 3.17–3.10 (m, 1 H, H-6^I), 2.99–2.93 (m, 2 H, 2 × H-6'), 2.87 (dd, J = 15.0, 10.8 Hz, 1 H, H-6^I), 2.84–2.81 (m, 2 H, 2 × H-1') ppm. ¹³C NMR (600 MHz, D₂O): δ = 102.45–102.38 (6 × C-1), 101.73 (C-1), 84.93 (C-4^I), 81.64–81.48 (6 × C-4), 73.57–72.33 (7 × C-2, 7 × C-3, 6 × C-5), 72.01 (C-5^I), 71.29 (C-5'), 70.59 (C-2'), 70.12–70.03 (C-3', C-4'), 60.93 (C-6), 60.69–60.61 (5 × C-6), 40.39 (C-6'), 34.07 (C-6^I), 32.57 (C-1') ppm. MS (ESI): $[M+H]^+$ = 1282,4. Pro C₄₈H₈₄NO₃₆S vypočteno 1282,4494.

6^I-((11-Amino-3,6,9-trioxaundekan-1-yl)sulfanyl)-6^I-deoxy-β-CD (22c)

Sloučenina **22c** byla připravena upraveným postupem podle literatury¹⁰⁸. K CD

derivátu **21c** (220 mg, 0,16 mmol) byl po třech částech přidán PPh_3 (323 mg, 1,23 mmol). Tato směs byla suspendována v DMF (1,2 ml) a míchána při l. t. 24 hodin. Poté byla do roztoku přidávána voda (0,5 ml) a směs byla míchána 2 dny pod zpětným chladičem při 90 °C. Do roztoku byla přidána další voda (1 ml) a míchání při stejné teplotě pokračovalo 2 dny. Ke směsi byl v dalších třech dnech přidán konc. roztok NH_3 (postupně 1, 2 a 3 ml). Průběh reakce byl sledován pomocí TLC ($n\text{-PrOH:H}_2\text{O:EtOAc:konc. roztok NH}_3 = 5:5:3:3$, detekce H_2SO_4). Po ochlazení na l. t. byla reakční směs naředěna vodou na 50 ml a extrahována toluenem ($3 \times 1:1$). Vodná fáze byla zakoncentrována na RVO na minimální objem, naředěna vodou na 1 ml a nalita do acetonu (100 ml). Vytvořená bílá sraženina byla od matečního louhu oddělena centrifugací (5 min), rozpuštěna ve vodě (1 ml) a znovu nalita do acetonu. Tento postup byl opakován ještě jedenkrát. Sraženina byla poté odpařena na RVO, rozpuštěna v minimálním množství vody, naadsorbována na silikagel (10 g) a přečištěna sloupcovou chromatografií na silikagelu (50 g, mobilní fáze $n\text{-PrOH:H}_2\text{O:konc. roztok NH}_3 = \text{gradientově od } 5:1:1 \text{ do } 10:3:3$). Tímto způsobem bylo získáno 64 mg sloučeniny, jejíž MS odpovídá formamidu **23**, tato látka byla rozpuštěna v konc. roztoku NH_3 (10 ml) a míchána 5 dní pod zpětným chladičem při 50 °C. Každý den byl do roztoku přidán čerstvý konc. roztok NH_3 (2 ml). Průběh reakce byl sledován na TLC ($n\text{-PrOH:H}_2\text{O:EtOAc:konc. roztok NH}_3 = 5:5:3:3$). Následně bylo veškeré rozpouštědlo odpařeno, odparek byl za horka rozpuštěn v min. množství 25% vodného roztoku MeOH, naadsorbován na silikagel (3 g) a přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (10 g, mobilní fáze $n\text{-PrOH:H}_2\text{O:konc. roztok NH}_3 = 5:1:1$). Tímto postupem bylo připraveno 63 mg sloučeniny **22c** ve formě bílé práškové látky ve výtěžku 29 %.

TLC – $R_f = 0,43$. ^1H NMR (600 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta = 5.93\text{--}5.62$ (m, 14 H, $7 \times \text{OH-2}$, $7 \times \text{OH-3}$), 4.86 (d, $J = 3.4$ Hz, 1 H, H-1), 4.84–4.80 (m, 6 H, $6 \times \text{H-1}$), 4.58–4.31 (m, $6 \times \text{OH-6}$), 3.81–3.74 (m, 2 H, H-5^I, H-6), 3.68–3.47 (m, 36 H, $7 \times \text{H-3}$, $2 \times \text{H-4}$, $6 \times \text{H-5}$, $11 \times \text{H-6}$, $2 \times \text{H-2'}$, $2 \times \text{H-3'}$, $2 \times \text{H-4'}$, $2 \times \text{H-5'}$, $2 \times \text{H-6'}$), 3.38–3.26 (m, $7 \times \text{H-2}$, $5 \times \text{H-4} + \text{H}_2\text{O}$), 3.37 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $2 \times \text{H-7'}$), 3.04–2.99 (m, 1 H, H-6^I), 2.75 (dd, $J = 13.6, 7.1$ Hz, 1 H, H-6^I), 2.70 (td, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 2 H, $2 \times \text{H-1'}$), 2.65 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $2 \times \text{H-8'}$) ppm. ^{13}C NMR (600 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta = 102.31$ (C-1), 101.95 ($5 \times \text{C-1}$), 101.63 (C-1), 84.88 (C-4^I), 81.53–81.32 ($6 \times \text{C-4}$), 73.06–72.00 ($7 \times \text{C-2}$, $7 \times \text{C-3}$, $6 \times \text{C-5}$), 72.76 (C-7'), 71.31 (C-5^I), 70.12 (C-2'), 69.83–69.46 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 59.90–59.83 ($6 \times \text{C-6}$), 41.21 (C-8'), 33.43 (C-6^I), 31.92 (C-1') ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1226,5$. Pro $\text{C}_{48}\text{H}_{84}\text{NO}_{36}\text{S}$ vypočteno 1326,4756.

Cystamin (26)

Cysteamin (2,021 g, 26,20 mmol) rozpuštěný v MeOH (30 ml) a konc. roztoku NH_3 (10 ml) byl 3 dny probubláván vzduchem při l. t. Každý den byl doplňován odpařený roztok. Průběh reakce byl sledován na TLC (MeOH:AcOH:1% roztok NH_4OAc = 10:1:9, R_f = 0,65, detekce ninhydrin). Během reakce se v roztoku vytvořila bílá suspenze, ta byla zfiltrována přes S4 fritu a promyta methanolem. Filtrát byl odpařen na RVO. Takto bylo připraveno 1,632 g cystaminu (**26**) ve formě bezbarvého tuhnoucího oleje ve výtěžku 82 %. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.01 (t, J = 6.2 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}_2$), 2.76 (t, J = 6.2 Hz, 4 H, $4 \times \text{CH}_2$), 1.33 (br s, 4 H, $2 \times \text{NH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁹.

Obecný způsob oxidace oligoethylenglykolů zakončených azidovou a sulfanylovou skupinou na disulfidy (OP16)

Derivát **20a**, **20b** nebo **20c** byl rozpuštěn v MeOH (15 ml) a konc. roztoku NH_3 (5 ml). Roztok byl 3 – 5 dní probubláván vzduchem při l. t. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (detekce KMnO_4 , UV). Rozpouštědla byla poté odpařena na RVO.

3,10-Dioxa-6,7-dithiadodekan-1,12-diazid (27a)

Obecným postupem OP16 bylo získáno 307 mg sloučeniny **27a** z thiolu **20a** (862 mg, 5,89 mmol) ve formě nažloutlého oleje ve výtěžku 36 %. TLC – hexan:EtOAc = 3:1, R_f = 0,45. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.73 (t, J = 6.6 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.64 (t, J = 5.0 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.37 (t, J = 5.0 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.88 (t, J = 6.6 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 315,1$. Pro $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_6\text{NaO}_2\text{S}_2$ vypočteno 315,0674.

3,6,13,16-Tetraoxa-9,10-dithiaoktadekan-1,18-diazid (27b)

Obecným postupem OP16 bylo získáno 2123 mg sloučeniny **27b** z thiolu **20b** (2356 mg, 12,32 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 91 %. TLC – hexan:EtOAc = 2:1, R_f = 0,32. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.73 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.69–3.62 (m, 12 H, $6 \times \text{CH}_2$), 3.37 (t, J = 5.1 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.87 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 403,1$. Pro $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{NaO}_4\text{S}_2$ vypočteno 403,1198.

3,6,9,16,19,22-Hexaoxa-12,13-dithiatetrakosan-1,24-diazid (27c)

Obecným postupem OP16 bylo získáno 1244 mg sloučeniny **27c** z thiolu **20c** (1334 mg, 5,67 mmol) ve formě lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 94 %. TLC – hexan:EtOAc = 1:1, R_f = 0,33. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.71 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 3.68–3.59 (m, 20 H, $10 \times \text{CH}_2$), 3.36 (t, J = 5.1 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$), 2.86 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times \text{CH}_2$) ppm, ve shodě s literaturou¹¹⁸. MS (ESI): $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 491,1$. Pro

$C_{16}H_{32}N_6NaO_6S_2$ vypočteno 491,1722.

Obecný postup Staudingerovy redukce disulfidů zakončených azidovými skupinami (OP17)

Sloučeniny **28a** – **28c** byly připraveny upraveným postupem podle literatury¹⁰². K diazidu **27a**, **27b** resp. **27c** rozpuštěnému v sušeném THF (33 ekv.) byl po ochlazení proudem studené vody přidán PPh_3 (2,2 ekv.). Směs byla míchána 24 hodin při l. t. Poté byla do reakční směsi přidána voda (10 ekv.) a roztok byl míchán dalších 24 hodin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (MeOH:HOAc:1% vodný roztok NH_4OAc = 10:1:9, detekce ninhydrin). Reakční směs byla extrahována mezi toluen a vodu (po 100 ml), vodná fáze byla ještě jednou třepána s toluenem (100 ml) a následně odpařena na RVO a přečištěna přes silný katex. Produkt byl eluován 10 – 15 % vodným roztokem NH_3 .

3,10-Dioxa-6,7-dithiadodekan-1,12-diamin (28a)

Obecným postupem OP17 bylo získáno 233 mg sloučeniny **28a** z diazidu **27a** (289 mg, 0,99 mmol) ve formě nažloutlé viskózní kapaliny ve výtěžku 98 %. TLC – R_f = 0,68. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.70 (t, J = 6.5 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 3.48 (t, J = 5.2 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.88 (t, J = 6.5 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.85 (t, J = 5.2 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 1.76 (s, 4 H, $2 \times NH_2$) ppm. MS (ESI): $[M+H]^+$ = 241,1. Pro $C_8H_{21}N_2O_2S_2$ vypočteno 241,1044.

3,6,13,16-Tetraoxa-9,10-dithiaoktadekan-1,18-diamin (28b)

Obecným postupem OP17 bylo získáno 1685 mg sloučeniny **28b** z diazidu **27b** (2080 mg, 5,47 mmol) ve formě bezbarvého oleje ve výtěžku 94 %. TLC – R_f = 0,70. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.70 (t, J = 6.6 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 3.65–3.56 (m, 8 H, $4 \times CH_2$), 3.50 (t, J = 5.2 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.87 (t, J = 6.6 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.86 (t, J = 5.1 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.07 (s, 4 H, $2 \times NH_2$) ppm. MS (ESI): $[M+H]^+$ = 329,1. Pro $C_{12}H_{29}N_2O_4S_2$ vypočteno 329,1569.

3,6,9,16,19,22-Hexaoxa-12,13-dithiatetrakosan-1,24-diamin (28c)

Obecným postupem OP17 bylo získáno 1050 mg sloučeniny **28c** z diazidu **27c** (1223 mg, 2,61 mmol) ve formě lehce nažloutlého oleje ve výtěžku 97 %. TLC – R_f = 0,65. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.70 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 3.66–3.56 (m, 16 H, $8 \times CH_2$), 3.50 (t, J = 5.2 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.86 (t, J = 6.7 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.85 (t, J = 5.2 Hz, 4 H, $2 \times CH_2$), 2.10 (s, 4 H, $2 \times NH_2$) ppm. MS (ESI): $[M+H]^+$ = 417,2. Pro $C_{16}H_{37}N_2O_6S_2$ vypočteno 417,2093.

Seznam literatury

- 1 Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743–1754.
- 2 Saenger, W.; Jacob, J.; Gessler, K.; Steiner, T.; Hoffmann, D.; Sanbe, H.; Koizumi, K.; Smith, S. M.; Takaha, T. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1787–1802.
- 3 Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1875–1918.
- 4 Hedges, A. R. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2035–2044.
- 5 Tian, S.; Zhu, H.; Forgo, P.; D'Souza, V. T. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2624–2630.
- 6 Easton C. J., Linclon S. F. *Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry*, Imperial College Press, London, 1999.
- 7 Crini, G.; Morcellet, M. *J. Sep. Sci.* **2002**, 25, 789–813.
- 8 Li, S.; Purdy, W. C. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 1457–1470.
- 9 Laza-Knoerr, A. L.; Gref, R.; Couvreur, P. *J. Drug Target.* **2010**, 18, 645–656.
- 10 Freudenberg K.; Rapp W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1936, 69, 2041–2045.
- 11 Freudenberg, K.; Cramer, F. *Z. Naturforsch.* 1948, 3b, 464.
- 12 Villiers, A. C. R. *Chim.* **1891**, 112, 536–538.
- 13 Schardinger, F. *Z. Unters. Nahr. Genussm.* **1903**, 6, 865–880.
- 14 Pringsheim, H. *Chemistry of the Saccharides*, McGraw-Hill, New York, 1932.
- 15 Freundenberg, K.; Meyer-Delius, M. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1938**, 71, 1596–1600.
- 16 French, D. *Adv. Carbohyd. Chem.* **1957**, 12, 189–260.
- 17 Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology*, Kluwer Academic Publisher, Boston, 1988.
- 18 Kraus T. *Cyklodextriny. Supramolekulární chemie I*, UOCHB AVČR, Praha, 2004.
Dostupné z URL <http://www.uochb.cas.cz/Zpravy/PostGrad2004/8_Kraus.pdf>
[cit. 14.12.2011].
- 19 MacNicol, D. D. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 3325–3326.
- 20 Cucinotta, V.; Contino, A.; Giuffrida, A.; Maccarrone, G.; Messina, M. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 953–967.
- 21 Xiangqiu, L.; Zhenhui, Q.; Kai, L.; Xiaolong, B.; Jiayun, X.; Junqiu, L.; Jiacong, S. *Catal. Lett.* **2008**, 124, 413–417.
- 22 Bjerre, J.; Rousseau, C.; Marinescu, L.; Bols, M. *Appl. Microbiol. Biot.* **2008**, 81, 1–11.
- 23 Yhaya, F.; Lim, J.; Kim, Y.; Liang, M.; Gregory, A. M.; Stenzel, M. H. *Macromolecules* **2011**, 44, 8433–8445.

- 24 Wenz, G.; Han, B.-H.; Müller, A. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 782–817.
- 25 Jindřich, J.; Tišlerová, I. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9054–9055.
- 26 Zhao, M.; Zhang, L.; Chen, H.-Y.; Wang, H.-L.; Ji, L.-N.; Mao, Z.-W. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6497–6499.
- 27 Tungala, K.; Adhikary, P.; Krishnamoorthi, S. *Carbohydr. Pol.* **2013**, *95*, 295–298.
- 28 Nelles, G.; Weisser, M.; Back, R.; Wohlfart, P.; Wenz, G.; Mittler-Neher, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5039–5046.
- 29 Wang, J.; Wang, D.; Sobal, N. S.; Giersig, M.; Jiang, M.; Möhwald, H. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2006**, *45*, 7963–7966.
- 30 Kijima, T.; Tanaka, J.; Goto, M.; Matsui, Y. *Nature* **1984**, *310*, 45–47.
- 31 Tang, S.-P.; Hu, P.; Chen, H.-Y.; Chen, S.; Mao, Z.-W.; Ji, L.-N. *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2011**, *335*, 222–227.
- 32 Brown, S. E.; Coates, J. H.; Easton, C. J.; Eyk, S. J. van; Lincoln, S. F.; May, B. L.; Stile, M. A.; Whalland, C. B.; Williams, M. L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 47.
- 33 Capretta, A.; Maharajh, R. B.; Bell, R. A. *Carbohydr. Res.* **1995**, *267*, 49–63.
- 34 Ikunaga, T.; Ikeda, H.; Ueno, A. *Chem.-Eur. J.* **1999**, *5*, 2698–2704.
- 35 Zhong, N.; Ohvo-Rekilä, H.; Ramstedt, B.; Slotte, J. P.; Bittman, R. *Langmuir* **2001**, *17*, 5319–5323.
- 36 West, L. C.; Wyness, O.; May, B. L.; Clements, P.; Lincoln, S. F.; Easton, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 887–894.
- 37 Wang, J.; Zhang, J.; Yu, S.; Wu, W.; Jiang, X. *ACS Macro Lett.* **2013**, *2*, 82–85.
- 38 Cucinotta, V.; D'Alessandro, F.; Impellizzeri, G.; Maccarrone, G.; Rizzarelli, E.; Vecchio, G. *J. Chem. Soc., Perk. T. 2* **1996**, 1785–1788.
- 39 Ferris, D. P.; Zhao, Y.-L.; Khashab, N. M.; Khatib, H. A.; Stoddart, J. F.; Zink, J. I. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1686–1688.
- 40 Lock, J. S.; May, B. L.; Clements, P.; Tsanaktsidis, J.; Easton, C. J.; Lincoln, S. F. *J. Chem. Soc., Perk. T. 1* **2001**, 3361–3364.
- 41 Onagi, H.; Easton, C. J.; Lincoln, S. F. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1041–1044.
- 42 Ke, C.; Yang, C.; Liang, W.; Mori, T.; Liu, Y.; Inoue, Y. *New J. Chem.* **2010**, *34*, 1323–1329.
- 43 Wang, Q.; Yang, C.; Ke, C.; Fukuhara, G.; Mori, T.; Liu, Y.; Inoue, Y. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 6849–6851.
- 44 Murayama, T.; Tanabe, T.; Ikeda, H.; Ueno, A. *Bioorgan. Med. Chem.* **2006**, *14*,

- 3691–3696.
- 45 Suzuki, I.; Ui, M.; Yamauchi, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4498–4499.
- 46 Steffen, A.; Thiele, C.; Tietze, S.; Strassnig, C.; Kämper, A.; Lengauer, T.; Wenz, G.; Apostolakis, J. *Chem.-Eur. J.* **2007**, *13*, 6801–6809.
- 47 Reetz, M. T.; Waldvogel, S. R. *Angew. Chem. Int. Edit.* **1997**, *36*, 865–867.
- 48 Breslow, R.; Czarnik, A. W.; Lauer, M.; Leppkes, R.; Winkler, J.; Zimmerman, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 1969–1979.
- 49 Nagai, K.; Hayakawa, K.; Kanematsu, K. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 1022–1027.
- 50 Yuan, D.-Q.; Kitagawa, Y.; Fukudome, M.; Fujita, K. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4591–4594.
- 51 Ihara, T.; Uemura, A.; Futamura, A.; Shimizu, M.; Baba, N.; Nishizawa, S.; Teramae, N.; Jyo, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1386–1387.
- 52 Ihara, T.; Wasano, T.; Nakatake, R.; Arslan, P.; Futamura, A.; Jyo, A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 12388–12390.
- 53 Yu, H.; Yuan, D.-Q.; Makino, Y.; Fukudome, M.; Xie, R.-G.; Fujita, K. *Chem. Commun.* **2006**, 5057–5059.
- 54 Banerjee, I. A.; Yu, L.; Matsui, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9542–9543.
- 55 Tamagaki, S.; Katayama, A.; Maeda, M.; Yamamoto, N.; Tagaki, W. *J. Chem. Soc., Perk. T. 2* **1994**, 507–511.
- 56 Zhao, M.-X.; Li, J.-M.; Du, L.; Tan, C.-P.; Xia, Q.; Mao, Z.-W.; Ji, L.-N. *Chem.-Eur. J.* **2011**, *17*, 5171–5179.
- 57 Zhang, L.; Wu, Y.; Brunsveld, L. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2007**, *46*, 1798–1802.
- 58 Tanabe, T.; Touma, K.; Hamasaki, K.; Ueno, A. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1877–1880.
- 59 Rudzinski, C. M.; Young, A. M.; Nocera, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1723–1727.
- 60 Yang, J. S.; Yang, L. *J. Mater. Chem.* **2013**, *1*, 909–918.
- 61 Schultz, W. *Annu. Rev. Neurosci.* **2007**, *30*, 259–288.
- 62 Lee, H.; Dellatore, S. M.; Miller, W. M.; Messersmith, P. B. *Science* **2007**, *318*, 426–430.
- 63 Liu, Y.; Ai, K.; Lu, L. *Chem. Rev.* **2014**. [DOI: 10.1021/cr400407a]
- 64 Zeng, R.; Luo, Z.; Zhou, D.; Cao, F.; Wang, Y. *Electrophoresis* **2010**, *31*, 3334–3341.
- 65 Yang, W. J.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T.; Teo, S. L.-M.; Rittschof, D. *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 3105–3115.

- 66 Liu, C.-M.; Liang, R.-P.; Wang, X.-N.; Wang, J.-W.; Qiu, J.-D. *J. Chromatogr. A* **2013**, *1294*, 145–151.
- 67 Clodt, J. I.; Filiz, V.; Rangou, S.; Buhr, K.; Abetz, C.; Höche, D.; Hahn, J.; Jung, A.; Abetz, V. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 731–738.
- 68 Feng, J.; Sun, M.; Xu, L.; Li, J.; Liu, X.; Jiang, S. *J. Sep. Sci.* **2011**, *34*, 2482–2488.
- 69 Niu, H.; Wang, S.; Zeng, T.; Wang, Y.; Zhang, X.; Meng, Z.; Cai, Y. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 15644–15653.
- 70 Cui, J.; Yan, Y.; Such, G. K.; Liang, K.; Ochs, C. J.; Postma, A.; Caruso, F. *Biomacromolecules* **2012**, *13*, 2225–2228.
- 71 Zhang, P.-H.; Cao, J.-T.; Min, Q.-H.; Zhu, J.-J. *ACS Appl. Mater. Interf.* **2013**, *5*, 7417–7424.
- 72 Jeong, B.; Akter, R.; Han, O. H.; Rhee, C. K.; Rahman, M. A. *B. Kor. Chem. Soc.* **2013**, *34*, 721–722.
- 73 Nuzzo, R. G.; Allara, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4481–4483.
- 74 Vericat, C.; Vela, M. E.; Benitez, G.; Carro, P.; Salvarezza, R. C. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1805–1834.
- 75 Jarzabek, G. *J. Electroanal. Chem. Interfac. Electrochem.* **1990**, *294*, 253–265.
- 76 Rojas, M. T.; Koeniger, R.; Stoddart, J. F.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 336–343.
- 77 Weisser, M.; Nelles, G.; Wohlfart, P.; Wenz, G.; Mittler-Neher, S. *J. Phys. Chem.-US* **1996**, *100*, 17893–17900.
- 78 Beulen, M. W. J.; Bügler, J.; Lammerink, B.; Geurts, F. A. J.; Biemond, E. M. E. F.; van Leerdam, K. G. C.; van Veggel, F. C. J. M.; Engbersen, J. F. J.; Reinhoudt, D. N. *Langmuir* **1998**, *14*, 6424–6429.
- 79 De Jong, M. R.; Huskens, J.; Reinhoudt, D. N. *Chem.-Eur. J.* **2001**, *7*, 4164–4170.
- 80 Damos, F. S.; Luz, R. C. S.; Sabino, A. A.; Eberlin, M. N.; Pilli, R. A.; Kubota, L. T. *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *601*, 181–193.
- 81 Kitano, H.; Taira, Y. *Langmuir* **2002**, *18*, 5835–5840.
- 82 Guowang Diao; Chen Qian; Ming Chen; Yajin Huang. *Supramol. Chem.* **2006**, *18*, 117–123.
- 83 Wang, J.; Kong, L.; Guo, Z.; Xu, J.; Liu, J. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 5271–5279.
- 84 Park, C.; Youn, H.; Kim, H.; Noh, T.; Kook, Y. H.; Oh, E. T.; Park, H. J.; Kim, C. *J. Mat. Chem.* **2009**, *19*, 2310.
- 85 Liu, Y.; Zhao, Y.-L.; Chen, Y.; Wang, M. *Macromol. Rapid Comm.* **2005**, *26*, 401–

- 406.
- 86 Ghosh-Mukerji, S.; Haick, H.; Schvartzman, M.; Paz, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10776–10777.
- 87 Xie, Y.; Wang, X.; Han, X.; Song, W.; Ruan, W.; Liu, J.; Zhao, B.; Ozaki, Y. *J. Raman Spectrosc.* **2011**, *42*, 945–950.
- 88 Liu, J.; Mendoza, S.; Román, E.; Lynn, M. J.; Xu, R.; Kaifer, A. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4304–4305.
- 89 Liu, Y.; Yang, Y.-W.; Chen, Y. *Chem. Commun.* **2005**, 4208–4210.
- 90 Jing, B.; Chen, X.; Wang, X.; Zhao, Y.; Qiu, H. *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 249–252.
- 91 Stine, K. J.; Andrauskas, D. M.; Khan, A. R.; Forgo, P.; D'Souza, V. T. *J. Electroanal. Chem.* **1999**, *465*, 209–218.
- 92 Jiao, P.; Zhou, H.; Otto, M.; Mu, Q.; Li, L.; Su, G.; Zhang, Y.; Butch, E. R.; Snyder, S. E.; Jiang, G.; Yan, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13918–13921.
- 93 Zhong, N.; Byun, H.-S.; Bittman, R. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2919–2920.
- 94 Martina, K.; Trotta, F.; Robaldo, B.; Belliardi, N.; Jicsinszky, L.; Cravotto, G. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 9185–9189.
- 95 Tang, B.; Liang, H.-L.; Xu, K.-H.; Mao, Z.; Shi, X.-F.; Chen, Z.-Z., *Anal. Chim. Acta* **2005**, *554*, 31–36.
- 96 Ng, S.-C.; Sun, T.; Chan, H. S. O. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 2863–2866.
- 97 Trojan, T.; Jindřich, J.; Vrkoslav, V.; Jelínek, I.; Dian, J. *J. Incl. Phenom. Macro.* **2007**, *57*, 343–348.
- 98 Bongers, K. M.; van den Berg, R. J. B. H. N.; Heitman, L. H.; IJzerman, A. P.; Oosterom, J.; Timmers, C. M.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A. *Bioorgan. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4841–4856.
- 99 Scullion, L. E.; Leary, E.; Higgins, S. J.; Nichols, R. J. *J. Phys.-Condens. Mat.* **2012**, *24*, 164211–164219.
- 100 Keddie, D. J.; Grande, J. B.; Gonzaga, F.; Brook, M. A.; Dargaville, T. R. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6006–6009.
- 101 Anelli, P. L.; Montanari, F.; Quici, S. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3453–3457.
- 102 Parker, C. G.; Domaoal, R. A.; Anderson, K. S.; Spiegel, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16392–16394.
- 103 De Abreu, F. C.; de Paula, F. S.; dos Santos, A. F.; Sant'Ana, A. E. G.; de Almeida, M. V.; Cesar, E. T.; Trindade, M. N.; Goulart *, M. O. F. *Bioorgan. Med. Chem.* **2001**, *9*, 659–664.

-
- 104 Yeo, W.-S.; Min, D.-H.; Hsieh, R. W.; Greene, G. L.; Mrksich, M. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, *44*, 5480–5483.
- 105 Wuts P. G. M., Greene T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Edition, Wiley, New York, 1996.
- 106 Meunier, S. J.; Wu, Q.; Wang, S.-N.; Roy, R. *Can. J. Chemistry* **1997**, *75*, 1472–1482.
- 107 Borchmann, D. E.; ten Brummelhuis, N.; Weck, M. *Macromolecules* **2013**, *46*, 4426–4431.
- 108 Tang, W.; Ng, S.-C. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 691–697.
- 109 Roy, R. K.; Ramakrishnan, S. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **2013**, *51*, 4125–4135.
- 110 Link, A.; Heidler, P.; Kaiser, M.; Brun, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3665–3671.
- 111 Imm, S.; Bähn, S.; Zhang, M.; Neubert, L.; Neumann, H.; Klasovsky, F.; Pfeffer, J.; Haas, T.; Beller, M. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2011**, *50*, 7599–7603.
- 112 Puglisi, A.; Spencer, J.; Clarke, J.; Milton, J. *J. Incl. Phenom. Macro.* **2012**, *73*, 475–478.
- 113 Bérubé, G.; Rabouin, D.; Perron, V.; N'Zemba, B.; Gaudreault, R.-C.; Parent, S.; Asselin, É. *Steroids* **2006**, *71*, 911–921.
- 114 Binder, W. H.; Petraru, L.; Roth, T.; Groh, P. W.; Pálfi, V.; Keki, S.; Ivan, B. *Adv. Funct. Mater.* **2007**, *17*, 1317–1326.
- 115 Wada, M.; Nakai, H.; Sato, Y.; Hatanaka, Y.; Kanaoka, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*, 429–435.
- 116 Gill, H. S.; Tinianow, J. N.; Ogasawara, A.; Flores, J. E.; Vanderbilt, A. N.; Raab, H.; Scheer, J. M.; Vandlen, R.; Williams, S.-P.; Marik, J. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5816–5825.
- 117 Funder, E. D.; Jensen, A. B.; Tørring, T.; Kodal, A. L. B.; Azcargorta, A. R.; Gothelf, K. V. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3134–3142.
- 118 Zhao, N.; Roesler, S.; Kissel, T. *Int. J. Pharm.* **2011**, *411*, 197–205.
- 119 Oba, M.; Tanaka, K.; Nishiyama, K.; Ando, W. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4173–4177.

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá přípravou cyklodextrinových (CD) derivátů vhodných pro vazbu na pevné povrchy, a to dopaminový polymer a zlato.

Nukleofilním atakem 6^I-*O*-*p*-toluensulfonyl-β-CD (6-tosyl-β-CD) dithioly vznikaly deriváty se substituenty vázanými na CD skelet přes jeden z atomů síry, zatímco druhá sulfanylová skupina zůstala zachována na konci řetězce. I přes počáteční problémy způsobené snadnou oxidací thiolů na disulfidy byly takové CD modifikované alkylovými a oligoethylenglykolovými můstky připraveny ve výtěžcích 60 – 88 %.

Stejnou reakcí, ale pomocí příslušných diaminů, byly připraveny i deriváty β-CD zakončené amino skupinou a vázané na CD přes dusík. I tyto reakce probíhaly ve výborných výtěžcích dosahujících až 92 %.

Byla také studována chemoselektivita připojení ambidentní spojky nesoucí zároveň amino a sulfanylovou skupinou a na základě 2D NMR experimentů byla prokázána vazba této spojky na cyklodextrinový skelet přes atom síry. To bylo demonstrováno na případě přípravy CD derivátu se spojkou délky dvou methylenových jednotek, který byl připraven ve výtěžku 84 %.

Kompletní série CD derivátů s oligoethylenglykolovými substituenty vázanými na CD přes atom síry a zakončené amino skupinou byly připraveny Staudingerovou redukcí příslušných azidů. Ty vznikly opět reakcí 6-tosyl-β-CD se spojkou zakončenou azidovou a sulfanylovou skupinou ve vysokých výtěžcích mezi 76 a 89 %.

Příprava poslední série se substituenty v tomto případě vázanými na CD skelet přes atom dusíku a s koncovou sulfanylovou skupinou byla komplikována nízkou nukleofilitou dusíku ve srovnání s atomem síry a tendencí thiolů se oxidovat na disulfidy. Přestože vznik těchto derivátů byl prokázán, zatím nebylo docíleno úspěšné přípravy a izolace těchto látek v dostatečné čistotě.

Pro všechny typy výše zmíněných derivátů byly připraveny vhodné oligoethylenglykolové výchozí látky pomocí standardních chemických přeměn.

Abstract

This master thesis deals with preparation of cyclodextrin (CD) derivatives that are suitable for bonding on solid surfaces such as dopamine polymer and gold.

The nucleophilic attack of 6¹-*O*-*p*-toluenesulfonyl- β -CD (6-tosyl- β -CD) by dithiols created derivatives with substituents bound to CD skeleton by one of the sulphur atom while keeping a free terminal sulphonyl group. Despite initial problems caused by oxidation of the thiols to disulfides, CDs were modified by alkyl or oligoethylene glycol spacers prepared in 60 – 88% yields.

The same reaction was used for preparation of derivatives of β -CD with amino group at the end of the tether that was linked to CD by nitrogen atom. For these purposes were used corresponding diamines and reactions proceeded smoothly reaching up to 92% isolated yield.

Next, also the chemoselectivity of the reaction with an ambident spacer bearing both amino and sulphonyl functional group was studied and by 2D NMR experiments was proved that substituent was bound to CD through sulphur atom. It was demonstrated on the case of preparation of CD derivative with dimethylene linker that was prepared in 84% yield.

A complete set of yet other CD-oligoethylene glycol derivatives with spacers linked to CD skeleton through the sulphur atom and terminated by amino group was prepared by Staudinger reduction of the corresponding azide. These derivatives were again formed by reaction of 6-tosyl- β -CD and tether terminated by sulphonyl and azide group in high yields ranging from 76 to 89%.

Preparation of the last set of derivatives with substituents joined to CD skeleton in this case by nitrogen atom and with terminal SH group was complicated by the low nucleophilicity of nitrogen compared to sulphur and the tendency of thiols to oxidize into disulfides. Although the formation of desired products was proved, the preparation and the isolation of these substances in sufficient purity were not successful.

For all of the above mentioned derivatives suitable oligoethylene glycol starting materials were prepared by standard chemical transformations.